

Aus dem Institut für Obstbau
der Justus Liebig-Universität Giessen
Geschäftsführender Direktor : Prof. Dr. W. Feucht

**Physiologische Untersuchungen zur Wurzelinduktion
in vitro an zwei verschiedenen Prunusarten
(Prunus avium und Prunus pseudocerasus)**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich "Angewandte
Biologie" der Justus Liebig -
Universität Giessen

eingereicht von
Dipl.-Ing. agr. Brigitte Dausend
aus Bad Hersfeld

Giessen 1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Obstbau
der Justus Liebig-Universität Giessen
Geschäftsführender Direktor : Prof. Dr. W. Feucht

Physiologische Untersuchungen zur Wurzelinduktion
in vitro an zwei verschiedenen Prunusarten
(*Prunus avium* und *Prunus pseudocerasus*)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich "Angewandte
Biologie" der Justus Liebig -
Universität Giessen

eingereicht von
Dipl.-Ing. agr. Brigitte Dausend
aus Bad Hersfeld

Giessen 1974



Dekan: Prof. Dr. W. Jahn
1. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Feucht
2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Gruppe
Tag der mündlichen Prüfung: 29. November 1974

VERZEICHNIS DER BÜCHER

Bücherei		
1.	Alphabetisches Verzeichnis	10
2.	Alphabetisches Verzeichnis	10
3.	Alphabetisches Verzeichnis	10
4.	Alphabetisches Verzeichnis	10
5.	Alphabetisches Verzeichnis	10
6.	Alphabetisches Verzeichnis	10
7.	Alphabetisches Verzeichnis	10
8.	Alphabetisches Verzeichnis	10
9.	Alphabetisches Verzeichnis	10
10.	Alphabetisches Verzeichnis	10
11.	Alphabetisches Verzeichnis	10
12.	Alphabetisches Verzeichnis	10
13.	Alphabetisches Verzeichnis	10
14.	Alphabetisches Verzeichnis	10
15.	Alphabetisches Verzeichnis	10
16.	Alphabetisches Verzeichnis	10
17.	Alphabetisches Verzeichnis	10
18.	Alphabetisches Verzeichnis	10
19.	Alphabetisches Verzeichnis	10
20.	Alphabetisches Verzeichnis	10
21.	Alphabetisches Verzeichnis	10
22.	Alphabetisches Verzeichnis	10
23.	Alphabetisches Verzeichnis	10
24.	Alphabetisches Verzeichnis	10
25.	Alphabetisches Verzeichnis	10
26.	Alphabetisches Verzeichnis	10
27.	Alphabetisches Verzeichnis	10
28.	Alphabetisches Verzeichnis	10
29.	Alphabetisches Verzeichnis	10
30.	Alphabetisches Verzeichnis	10
31.	Alphabetisches Verzeichnis	10
32.	Alphabetisches Verzeichnis	10
33.	Alphabetisches Verzeichnis	10
34.	Alphabetisches Verzeichnis	10
35.	Alphabetisches Verzeichnis	10
36.	Alphabetisches Verzeichnis	10
37.	Alphabetisches Verzeichnis	10
38.	Alphabetisches Verzeichnis	10
39.	Alphabetisches Verzeichnis	10
40.	Alphabetisches Verzeichnis	10
41.	Alphabetisches Verzeichnis	10
42.	Alphabetisches Verzeichnis	10
43.	Alphabetisches Verzeichnis	10
44.	Alphabetisches Verzeichnis	10
45.	Alphabetisches Verzeichnis	10
46.	Alphabetisches Verzeichnis	10
47.	Alphabetisches Verzeichnis	10
48.	Alphabetisches Verzeichnis	10
49.	Alphabetisches Verzeichnis	10
50.	Alphabetisches Verzeichnis	10

Meiner Familie



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Hormone	5
1. Literaturübersicht	5
2. Material und Methode	9
2.1. Nährmedium	9
2.2. Untersuchte Stoffe	9
2.3. Kulturgefäße	10
2.4. Internodienkultur	10
2.5. Kalluskultur	11
3. Tauchen der Triebe in Hormonlösung vor der in vitro Kultur	12
3.1. Problemstellung	12
3.2. Methode	14
3.3. Ergebnis	15
3.3.1. Kalluswachstum	15
3.3.2. Polarität	15
3.3.3. Wurzelbildung	15
3.3.4. Vergleich der Triebstücke der Spitze mit denen der Basis	17
3.4. Diskussion	18
4. Versuche zur Beeinflussung der genetischen Kontrolle der Wurzelbildung	19
4.1. Problemstellung	19
4.2. Methode	20
4.3. Ergebnisse	21
4.4. Diskussion	21
5. DOPA-Versuch	23
5.1. Problemstellung	23
5.2. Methode	23
5.3. Ergebnisse	24
5.3.1. Wurzelbildung	24
5.3.2. Kalluswachstum	25
5.4. Diskussion	26

	Seite
6.	Kultur in verschiedenen Hormon- lösungen 27
6.1.	Problemstellung 27
6.2.	Methode 28
6.3.	Ergebnisse - Wirkungen der ver- schieden Hormone auf Kallus- wachstum und Wurzel differenzierung 30
6.3.1.	IBS 30
6.3.2.	2,4-D 31
6.3.3.	BA 31
6.3.4.	ABS 32
6.3.5.	ABS und BA in Kombination mit 2,4-D 32
6.3.6.	IBS zusammen mit ABS oder BA 32
6.3.7.	Kombination ABS mit BA ohne Auxin 33
6.3.8.	Subkultur 34
6.3.8.1.	Umsetzung auf gleiches Hormonniveau 34
6.3.8.2.	Subkultur auf verringertem Hormonniveau 35
6.3.9.	Wiederholungsversuch im Juni 36
6.3.10.	Subkultur des Wiederholungsversuches im Oktober 36
6.3.10.1.	Subkultur auf gleichem Hormonniveau 37
6.3.10.2.	Subkultur auf verringertem Hormonniveau 38
6.3.11.	Vergleich der beiden Versuche vom Februar und Juni 39
6.4.	Diskussion 40
III. Phenole	
1.	Literaturübersicht 44
2.	Vergleich der phenolischen Sub- stanzen bei P. avium und P. pseu- docerasus 48
2.1.	Problemstellung 48
2.2.1.	Probenahmen 50
2.2.1.1.	Im Februar 50
2.2.1.2.	Im Juni 50
2.2.1.3.	Im Oktober 51
2.2.2.	Qualitative Bestimmung der Flecken 51
2.2.2.1.	Erkennen eines Stoffes durch Testsubstanzen 51
2.2.2.2.	Erstellen der Absorptionskurve mit dem Spektralphotometer 52

	Seite
2.2.3. Quantitative Bestimmungen	52
2.2.3.1. Gesamtphenolbestimmung	52
2.2.3.2. Catechinbestimmung	53
2.3. Ergebnisse	54
2.3.1. Unterschiede im Phenolmuster beider Kirscharten	54
2.3.2. Gemeinsamkeiten im Phenolmuster beider Kirscharten	58
2.4. Diskussion	72
2.4.1. Unterschied im Phenolmuster zwischen Trieb und Kallus	74
2.4.2. Feststellung jahreszeitlich be- dingter Unterschiede im Phenolmuster	75
IV. Prüfung des Rutins in der Gewebekultur	76
1. Problemstellung	76
2. Methode	77
2.1. Wirkung des Rutins auf alten Kallus	77
2.2. Wirkung des Rutins auf frisch eingesetzte Triebe	77
2.2.1. Umsetzung des am Triebstück gebil- deten Kallus auf frische Nährlösung gleicher Hormon- und Rutinstufe	78
2.3. Vorkultur der Triebstücke ohne Rutin auf 1 ppm NES/1 ppm BA und 1 ppm NES/0,1 ppm BA	78
2.3.1. Umsetzung des Kallus nach 4 Wochen auf Rutin	78
2.4. Prüfung des Rutins mit Avena-Koleoptilen	78
3. Ergebnisse	79
3.1. Wirkung des Rutins auf alten Kallus	79
3.1.1. Wurzelwachstum	79
3.1.2. Kalluswachstum	81
3.2. Wirkung des Rutins auf Triebstücke	84
3.2.1. Wurzelzahl	84
3.2.2. Kalluswachstum	86
3.2.3. Chlorophyllgehalt in den Trieben	87
3.3. Rutinwirkung bei vom Segment abge- trennten Kallus auf die Wurzelzahl	88

	Seite
3.4.	Vorkultur der Triebstücke ohne Rutin zur Gewinnung von frischem Kallus 89
3.4.1.	Umsetzung des Kallus auf Rutin 90
3.5.	Wirkung des Rutins im Avena-Test 96
4.	Diskussion 97
4.1.	Wurzeln an Triebstücken 97
4.2.	Wurzeln an Kallus 97
4.3.	Kalluswachstum 98
4.4.	Beziehungen zwischen Chlorophyllgehalt und Bewurzelung 100
V.	Gesamtdiskussion 101
1.	Einflüsse der Hormone auf die Wurzelbildung bei <i>P. avium</i> und <i>P. pseudocerasus</i> 101
2.	Bewurzelungsreaktion der Triebstück- und Kalluskultur 102
3.	Einflüsse der Phenole auf die Wurzeldifferenzierung 102
4.	Phenolverteilung in Trieben und Kallus 103
5.	Einfluß des Lichtes auf die Bewurzelung 104
6.	Die Bedeutung der Jahreszeit für die Bewurzelung in vitro 104
7.	Beurteilung der in vitro Kultur für die Bewurzelung von Obstgehölzen 104
VI.	Zusammenfassung 107

Physiologische Untersuchungen zur Wurzelinduktion in vitro an zwei verschiedenen Prunusarten (Prunus avium und Prunus pseudocerasus)

1. Einleitung

Die vegetative Vermehrung spielt im Obst- und Gartenbau eine fundamentale Rolle, denn sie macht es möglich, selektierte Pflanzen genetisch einheitlich zu vervielfältigen.

Die Fähigkeit zur Regeneration von Wurzeln ist unter natürlichen Umständen von Pflanze zu Pflanze sehr unterschiedlich (LYR, POLSTER und FIEDLER, 1967). Es treten innerhalb einer Species oder sogar innerhalb Varietäten einer Species erhebliche Unterschiede in der Fähigkeit, Wurzeln zu bilden, auf (CHILDERS und SNYDER, 1957; RICHARDS, 1964; KESTER und SARTORI, 1966). Zwischen den beiden Extremfällen sehr leichter und sehr schwieriger Adventivwurzelbildung findet man die verschiedensten Zwischenstufen der Bewurzelungsfähigkeit.

Aus diesen pflanzenspezifischen Bewurzelungsunterschieden heraus wurden verschiedene Vermehrungsmethoden entwickelt, aber wegen der relativ problemlosen Durchführung wird in der Praxis die Verklonung der Pflanzen über Stecklinge bzw. über Steckhölzer angestrebt.

Unter den Kirscharten stellt die Bewurzelung von *P. avium* ein Problem dar (HARTMANN und BROOKS, 1958; KARNATZ, 1962). Für den praktischen Obstbau ist die Vogelkirsche F 12/1 von großer Bedeutung, da sie als Unterlage für alle Süßkirscharten geeignet ist. Deshalb besteht ein starkes Interesse seitens der Baumschulen, diese Kirschart ohne Schwierigkeiten zu vermehren. Erfolgreiche Verfahren werden aus East Malling (Ableger), aus Wageningen (Wurzelschnittlinge) und Wädenswil (Stecklinge) berichtet. Diese Verfahren sind aber noch relativ arbeitsintensiv. Um Möglichkeiten für eine Verbesserung aufzuzeigen und um prinzipiell neue Erkenntnisse in Bewurzelungsfragen zu erhalten, wurde die folgende Arbeit angefertigt.

Die wechselhaften Bewurzelungserfolge haben ihre Ursache in zahlreichen Faktoren, die auf den Steckling einwirken und durch die er endogen determiniert sein kann. Nach den heutigen Erkennt-

nissen lassen sich die die Wurzelbildung beeinflussenden Faktoren gliedern in:

1. physikalische: Temperatur, Bodensubstrat, Licht und Feuchtigkeit
2. biochemische:
 - a) Ernährung: Kohlehydrate, Makro- und Mikronährstoffe, Vitamine
 - b) Wuchsstoffe: wie Auxine, Kinetine, Gibberelline und Abscisinsäure etc.
 - c) sekundäre Stoffwechselprodukte: z.B. Phenole und Terpenoide

Das Problem liegt darin, den oder die begrenzenden Faktoren für jede einzelne Pflanzenart zu finden. Es bleibt dann immer noch der physiologische Mechanismus zu klären, nämlich ob

1. das Fehlen bestimmter Stoffe die Wurzelbildung verhindert, oder
2. Hemmstoffe vorhanden sind, die den wurzelbildenden Stoff inaktivieren, oder
3. die fehlende Bereitschaft, Adventivwurzeln zu bilden, ein genetisches Merkmal darstellt.

Sicherlich ist ein Zusammenspiel aller drei Komponenten die Ursache dafür,* ob Differenzierungsvorgänge ablaufen oder nicht.

Aus diesen Faktoren resultieren weitere Punkte, die nicht außer acht gelassen werden dürfen. Die Einflüsse der Mutterpflanze, d.h. ihr Ernährungszustand, ihr endogener Wuchsstoff- bzw. Hemmstoffspiegel (SPIEGEL, 1955; RICHARDS, 1964), der durch Maßnahmen wie z.B. Sprühnebel (LEE und TUCKEY, 1971) beeinflussbar ist, sowie ihr Alter (THIMANN und DELISLE, 1939; MIROV, 1944; SCHRÖCK, 1956; PERRY und VINES, 1972) dürfen nicht unterschätzt werden.

Ebenso kann die Position des Stecklings innerhalb der Mutterpflanze eine Rolle spielen, wenn man sich die Veränderungen der Stoffgehalte von der Triebspitze bis zur Wurzel vor Augen führt (ZIMMERMANN, 1936; SÖDING, 1952).

Desweiteren ist viel über die Beschaffenheit des Stecklings selbst geschrieben worden. JAUHARI und KOHLI (1960) geben in der vegetativen Vermehrung von Pfirsich-Grünstecklingen vor Steck-

hölzern den Vorzug. FLORINO und VITAGLIONO (1968) berichten von einem günstigen Einfluß steigender Blattzahlen am Steckling auf dessen Wurzeldifferenzierung. HOWARD und NAHLAWI (1969) erzielten mit dünnem Steckholz bei Pflaumen einen besseren Erfolg als mit dickem. Auch bei Kirschen sind dünne Stecklinge Voraussetzung (MEYER, 1964).

Auf Grund der jahreszeitlich bedingten endogenen, quantitativen Wuchsstoffveränderungen in den Pflanzen unterliegt die Bewurzelungswilligkeit starken Schwankungen, sodaß dem Steckzeitpunkt wesentliche Bedeutung zukommt (SCHIMMELPFENG, 1965; VIEITEZ und PENA, 1968, TOGNONI und LORENZI, 1972; GUERRIERO und LORETI, 1972; BADR, 1973).

Der Bogen, der die Adventivwurzelbildung beeinflussenden Faktoren ist offensichtlich weit gespannt, wodurch die Durchführung von Experimenten mit Steckversuchen sehr erschwert wird. Voraussetzung ist zu dem, daß Stecklingsmaterial in großem Umfang zur Verfügung stehen muß, damit breitangelegte Untersuchungen durchgeführt werden können, um umfassende Aufschlüsse über die gesamte Problematik der Adventivwurzelbildung zu erhalten.

Aus diesem Grund wandte man sich in der vorliegenden Arbeit bewußt der Bewurzelung in vitro zu, um unter weitgehender Ausschaltung der Umwelteinflüsse die Physiologie der Wurzeldifferenzierung von *P. avium* und zum Vergleich dazu der gut wurzelnden *P. pseudocerasus* zu ergründen. Durch Konstanthaltung verschiedener Faktoren wie z.B. Temperatur und Ernährung soll eine möglichst weitreichende Standardisierung des Untersuchungsmaterials erreicht werden. Diese Überlegungen stützen sich auf Aussagen von WHITE (1954), STEWARD, MAPES und MEARS (1958), MURASHIGE und SKOOG (1962), LINSMAIER und SKOOG (1965), und PIERIK (1969, 1971), denen die Bewurzelung von Pflanzenkallussen und -segmenten in vitro gelungen ist.

Die Internodien- und Kalluskultur in vitro bietet auch für die Neuzüchtung von Gehölzen gute Möglichkeiten und könnte ihren Einzug in die Praxis halten, da auf diese Weise eine hohe Vermehrungsrate der Klone gewährleistet ist, wenn es gelingt, die optimalen Kulturbedingungen zu finden.

Durch die in vitro-Methode erhoffte man sich für den speziellen Fall der Bewurzelung von *P. avium* Aufklärung über:

A) 1. die Wuchsstoffe

- a) Einfluß einer Tauchbehandlung mit Auxin und Kinetin vor der in vitro Kultur
- b) optimale Hormonkonzentration bzw. -kombination

2. die Reaktion auf eine Beeinflussung der Transskription und Translation durch Actinomycin-D und Chloramphenicol

3. das Phenol DOPA

in der Internodienkultur

4. das Phenol Rutin

- a) in der Internodienkultur
- b) in der Kalluskultur

B) Zusätzlich zu den Experimenten in der Gewebekultur befaßt sich die Arbeit mit 1. phenolischen Säuren

2. Flavonoiden, die sich dünnschicht-chromatographisch in den beiden zur Untersuchung anstehenden Kirscharten feststellen lassen, um die Natur der die Differenzierungsvorgänge beeinflussenden Stoffe näher kennenzulernen.

II. Hormone

1. Literaturübersicht

Eine wesentliche Steigerung der Stecklings-Bewurzelung läßt sich schon durch geeignete Anzuchtverfahren erreichen, mit denen man die Faktoren Temperatur (WELLS, 1958; HEIDE, 1964; ECCHER, 1972), Licht (WENT und THIMANN, 1937, ANDREASSON und ELLISON, 1967) und Feuchtigkeit regulieren kann. Ein Ergebnis dieser intensiven Forschung ist die Bodenheizung mit Sprühnebel (GARDNER, 1941; O'ROURKE, 1949; RAINES, 1940; STOUTEMYER und O'ROURKE, 1943; SNYDER und HESS, 1957; SCHÖNBERG, 1963).

Neue Gesichtspunkte zur Adventivwurzelbildung erhielt man, als die Bedeutung der endogenen Wuchsstoffe insbesondere der Auxine erkannt wurde. Einen umfassenden Überblick über die Wuchsstoffe in bezug auf die Wurzel differenzierung geben WENT und THIMANN (1937), AVERY und JOHNSON (1947), AUDUS (1965), LEOPOLD (1955, 1964a), FAWCEIT (1961), LARSEN (1961, 1962), SÖDING (1961), LEOPOLD (1964b), KLEIN (1961) und NITSCH (1964).

Auxin wird in den Knospen und jungen Triebspitzen gebildet und dann basalwärts weitergeleitet. Entfernt man Knospen und Blätter eines Triebes, so bleibt die Wurzelbildung aus. Applizierte man anschließend Auxin, so kann die normale Bewurzelung wieder erreicht oder sogar gesteigert werden. Derartige Erkenntnisse macht man sich in der Praxis schon lange zunutze, indem die Stecklinge kurz vor dem Stecken in eine Auxinlösung getaucht werden. Diese Behandlung bringt bei einer Anzahl von Pflanzen den gewünschten Erfolg.

Als endogenes Auxin ist bislang nur die IES identifiziert worden (WENT, 1929; SCHRAUDOLF, 1973). Appliziert werden daneben noch IBS, NES und 2,4-D, die sich untereinander hinsichtlich ihrer Beständigkeit und Wirkintensität (JANSEN, 1969) und ihrer Wirkung unterscheiden (RAO, HANDRO, HARADA, 1973).

Neben den Auxinen sind die Cytokinine an vielen physiologischen Wirkungsmechanismen beteiligt. Zu dieser Stoffgruppe gehören das aus Pflanzen isolierte Zeatin, sowie die synthetischen Produkte Adenin und Kinetin. Sie sind als Zellteilungs-

hormone bekannt, nehmen aber auch erheblichen Einfluß auf die Organdifferenzierung. Es konnte in vitro nachgewiesen werden, daß Cytokinin in höheren Konzentrationen die Knospenentwicklung an Pflanzensegmenten induzieren kann (SKOOG, 1944; SKOOG und TSUI, 1948; 1951; VASIL und HILDEBRANDT, 1965; RAO, HANDRO und HARADA, 1973). Die Wirkung der Cytokinine scheint in diesen speziellen Fällen der Wirkung der Auxine entgegengerichtet zu sein (THIMANN, 1963). Werden jedoch beide Stoffe zum Medium zugegeben, stehen sie in sich ergänzenden Wechselbeziehungen zueinander. MEREDITH, JOINER und BIGGS (1970), BASOCCU (1972) berichten von einem additiven Effekt des Kinetins auf die auxinbedingte Rhizogenese, wenn das Mengenverhältnis zugunsten des Auxins verschoben ist. Wird dagegen Kinetin in größerer Menge appliziert, wird die Wirkung des Kinetins in Richtung Sproßbildung durch Auxin unterstützt (HEIDE, 1965; MOHR, 1969). Die Bildung eines Organs könnte folglich von bestimmten Auxin/Cytokininverhältnissen abhängig sein (SKOOG und MILLER, 1957).

Es wird vermutet, daß Abscisisäure (ABS) bei den Adventivwurzelbildungsprozessen ebenfalls einen regulierenden Einfluß ausübt. In vieler Hinsicht hat Abscisin einen hemmenden Effekt und wirkt meist den Indolen, Gibberellinen und Kinetinen entgegen. Es hängt häufig vom Gleichgewicht zwischen der ABS und allen anderen Phytohormonen ab, ob und in welche Richtung eine Morphogenese ablaufen kann oder nicht (HESS, 1970).

CHIN, MEYER und BEEVERS (1969) und BASU, ROY und BOSE (1970) konnten einen wurzelstimulierenden Effekt der ABS nachweisen.

Auch das Zellstreckungshormon Gibberellin wurde auf seine Rolle in der Wurzelbildung getestet. Versuche von BASOCCU (1972) und BADR (1973) deuten auf einen hemmenden Einfluß hin. Zu der gleichen Ansicht gelangten BRIAN, HEMMING und LOWE (1960), JANSEN (1967) und DIGBY und WAREING (1966). Sie vermuten, daß die Hemmung in der zu starken Zellteilung gegeben ist, die der Differenzierung vorausgeht. THORPE und MEIER (1973) fanden bei der Sproßbildung von Tabakkallus eine ähnliche Wirkweise des Gibberellins. Dagegen stehen die Ergebnisse von GAUTHERET (1969), der bei einer Auxin-Gibberellinapplikation eine Bewurzelungs-

steigerung bei *Helianthus* beobachten konnte. Voraussetzung war allerdings, daß die Kultur im Dunklen stattfand. Der hemmende Einfluß des Lichtes im Gibbereilinversuch wird auch von NANDA, PUROHIT und MEHRUTA (1968) erwähnt.

Die endogenen Substanzen, die, wie nachgewiesen wurde, einen bedeutenden Anteil an der Organogenese haben, werden wiederum in ihrer Wirkung durch die Faktoren Licht und Temperatur beeinflusst.

WENT und THIMANN (1937) bestrahlten etioliierte Bohnenstecklinge mit unterschiedlichen Wellenlängen. Die Folge war eine Hemmung der Adventivwurzelbildung, wobei der Hemmeffekt bei kurzwelligem (blauem) Licht am stärksten war. Waren die Stecklinge jedoch beblättert, wurde die Bewurzelung durch Licht gefördert. FURUJA und TORREY (1964) beobachteten die Wirkung roten Lichtes auf die Seitenwurzelbildung isolierter Sämlingswurzelsegmente und intakten Wurzeln von *Pisum sativum*, die in Sterilkultur gewachsen waren. Die Belichtung hatte auf die Wurzelsegmente selbst keine Wirkung. Sie verursachte jedoch eine eindeutige Hemmung der Ausbildung von Seitenwurzeln. ANDREASSON und ELLISON (1967) und OLIEMAN-VAN DER MEER, PIERIK und ROEST (1971) konnten *Asparagus*, *Phaseolus* und *Rhododendron* nur in Dunkelheit zur Wurzelbildung anregen.

Nach GALSTON (1948), HARTMANN und HANSEN (1958) und HEIDE (1965, 1967) hängt die Wirkung der Wachstumsregulatoren von der Temperatur ab. JAIN und NANDA (1972) wiesen eine Wechselbeziehung zwischen Zuckerzugabe zum Nährmedium und Kulturtemperatur bei Stammsegmenten von *Salix tetrasperma* nach. Die günstigste Temperatur für die *in vitro* Kultur scheint zwischen 20 und 30° C zu liegen (PIERIK, 1969; MURASHIGE, SHABDE, HASEGAWA, TAKATORI und JONE, 1972).

Über den Ernährungszustand des Stecklings sowie die Nährstoffversorgung *in vitro* in bezug auf die Bewurzelungsvorgänge liegen ebenfalls Arbeiten vor. KRAUS und KRAYBILL (1918) zeigten an Tomaten, daß die Zahl der Wurzeln bei hohem Kohlehydrat- und Stickstoffgehalt anstieg. Das gleiche berichtet WINKLER (1927). STOLTZ (1968) schreibt von einer bemerkenswerten positiven Relation der Gesamtkohlenhydrate mit der Wurzelinduktion bei

einer schwerwurzelnden und einer leichtwurzelnden Chrysanthemen-sorte.

Versuche von NANDA und ANAND (1970) deuten darauf hin, daß es darauf ankommt, in welcher Form die Kohlehydrate vorliegen, ob als Stärke oder als Zucker. Stecklinge von *Populus nigra* haben während der Winterruhe einen hohen Stärkegehalt. In dieser Zeit beobachteten sie eine geringe Wurzelbildung. Im Frühjahr ging der Stärkegehalt zurück, worauf sich ein kräftiges Wurzeln einstellte. Sie äußern die Vermutung, daß das schlechte Wurzeln im Winter aus der niedrigen Aktivität der hydrolisierten Enzyme resultiert, die die Stärke nicht in Zucker umwandeln.

In der Gewebekultur ist ein Zusatz von Zucker zum Nährmedium essentiell (PIERIK, 1969/1971; JAIN und NANDA, 1972; OLIEMAN-VAN DER MEER, PIERIK und ROEST, 1971; NANDA, JAIN und MALHOTRA, 1971). Das Optimum ist wie bei allen anderen Substanzen auch hier pflanzenspezifisch. Histochemische Untersuchungen von THORPE und MURASHIGE (1970) zeigten eine ausgeprägte Stärkeakkumulation in Tabakkallus. Die Stärkeanhäufung geht einer Organbildung voraus - in diesem Fall der Sproßbildung - und ist hauptsächlich in der Region zu finden, aus der ein Primordium hervorgeht.

Neben den Kohlehydraten erkannte man auch die Bedeutung der Makro- und Mikronährstoffe. HÜLSMANN (1937) stellte fest, daß Kalium und Ammoniumnitrat die Bewurzelungsfähigkeiten von *Coleus* steigert, während Ammoniumsulfat wirkungslos war. Nach DOAK (1940) hatte die Zugabe von Stickstoffverbindungen organischer oder anorganischer Natur eine positive Wirkung auf *Rhododendron*. THIMANN und POUTASSE (1941) behandelten Bohnenstecklinge mit zwei organischen Stickstoffverbindungen Asparagin und Adenin, womit sich ein wurzelpositiver Effekt erzielen ließ. Die Zugabe von Ammoniumsulfat hemmte, Kaliumsulfat dagegen förderte in großem Maße.

Diesen Problemen wurde bei der Zusammenstellung der Nährmedien für die *in vitro* Kultur versucht, Rechnung zu tragen.

2. Material und Methode

Es werden die beiden Kirschsor ten P. avium (Limburger Vogelkirsche und F 12/1) und P. pseudocerasus, die nach SCHMIDT (1973) nicht der P. pseudocerasus Lindl. bei KRÜSS-MANN entspricht, die mit Sicherheit aber in die Sektion Pseudocerasus gehört, untersucht.

2.1. Nährmedium

Die Ernährung der Gewebeteile wurde durch ein modifiziertes MURASHIGE/SK00G-Nährmedium (1962) sichergestellt. Es setzt sich wie folgt zusammen:

Makronährstoffe

NH_4NO_3	825	mg/l
KNO_3	950	"
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	220	"
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	185	"
KH_2PO_4	85	"
Na_2EDTA	37,3	"
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8	"

organische Stoffe

Saccharose	30	g/l
Glycocol l	2	mg/l
myo Inosit	100	"
Nicotinsäure	0,5	"
Piridoxin HCl	0,5	"
Thiamin HCl	0,1	"

Mikronährstoffe

H_3BO_3	6,2	mg/l
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	"
$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	6,6	"
KJ	0,83	"
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	"
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	"
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,0025	"

2.2. Untersuchte Stoffe

Auf Wurzelinduktion wurden folgende Stoffe in der Gewebekultur geprüft:

die Auxine

2,4-Dichlorophenoxyessigsäure (2,4-D)

Indolbuttersäure (IBS)

Naphtylessigsäure (NES) und
Indolessigsäure (IES)

das Kinetin

Benzylaminopurin (BA)

die Phenole

DOPA / Dihydroxyphenylalanin

Rutin außerdem

das Chloramphenicol und

das Actinomycin-D

Genauere Angaben über die Konzentrationen dieser Stoffe werden in den einzelnen Versuchsbeschreibungen gemacht.

Die Kultur wurde in Dunkelheit bei Raumtemperatur gehalten.

2.3. Kulturgefäße

Die Nährlösung wurde in Reagenzgläser (25 x 150 mm) gefüllt. Chromatographiepapier diente als Träger für die einzusetzenden Sproßsegmente oder Kallusteilchen. Ein Verschuß aus Aluminiumfolie sorgte für einen sterilen Abschluß bei notwendigem Gasaustausch.

Die Gläser wurden anschließend 20 Minuten autoklaviert.

2.4. Internodienkultur

Einjährige Triebe wurden geschnitten und mit einem Scheuermittel (Ata) gewaschen. In der Impfkammer wurde das Phellem entfernt und der Sproß in 5 mm lange Segmente geteilt. Zwei Triebstücke kamen jeweils in ein Reagenzglas. Ein gewisser Prozentsatz an Infektion durch Pilze oder Bakterien ließ sich auch durch diese Behandlung nicht vermeiden. Dieser Ausfall ist in den Tabellen angegeben.

2.5. Kalluskultur

Kallusstücke, die sich an den eingesetzten Sproßsegmenten entwickelten, wurden unter sterilen Bedingungen von diesen getrennt und in einer Subkultur auf frischem Nährmedium weiter kultiviert. Derartige Kalluskulturen haben den Vorteil, daß sie beliebig oft umgesetzt werden können und daß das Material schnell vermehrt werden kann.



Abb. 1 Wurzelbildung in vitro an *P. avium*
(Triebsegment)

3. Tauchen der Triebe in Hormonlösung vor der in vitro Kultur

3.1. Problemstellung

Aus der Praxis ist bekannt, daß die Bewurzelung eines *P. avium*-Stecklings umso schwieriger ist, je größer der Kallusklumpen ist, der sich an seiner Basis bildet. Betrachtungen über den Ursprung der Adventivwurzeln machen diese Erscheinung vielleicht verständlich.

Die Adventivwurzeln entstehen aus Zellgruppen, die unter bestimmten Bedingungen meristematisch werden können. Diese Zellgruppen sind histologisch identische Bestandteile der je nach Pflanzenart verschiedenen Gewebe wie z.B. das sekundäre Phloem, die Markstrahlen oder das Kambium (CORBETT, 1897; VAN TIEGHEM und DOULIOT, 1888). Daneben gibt es aber auch Arten, die schon während der Sproßentwicklung regelmäßig Wurzelprimordien differenzieren (TRECUL, 1846; VAN DER LEK, 1930; CARPENTER, 1961). Dies ist oft bei leichtwurzelnenden Arten wie Weide oder Pappel, Jasmin, Ribes oder Citrus der Fall (HARTMANN und KESTER, 1968). Nach KRAUS, BROWN, und HAMNER (1936) und GORTER (1968) läßt sich der Adventivwurzelbildungsprozeß wie folgt beschreiben:

Der Entdifferenzierung schon organisierter Gewebeteile folgt eine kurze Phase reger Zellteilung mit anschließender Differenzierung zum neuen Organ der Wurzel.

Die Vermutung liegt nahe, daß die biochemischen Voraussetzungen bei *P. avium* so sind, daß ein derartiger Prozeß nicht vollständig ablaufen kann. Es muß deshalb nach Möglichkeiten gesucht werden, diese Wachstums- und Differenzierungsvorgänge optimal zu lenken.

Der Idealzustand wäre eine Stecklingsbasis, die den Übergang vom Teilungswachstum ins Differenzierungswachstum rasch vollzieht, sodaß sich bald darauf die Wurzelbildung einstellt.

Diese Vorstellung gab Veranlassung dazu, zunächst nicht mit undifferenziertem Kallusgewebe der beiden Kirscharten zu arbeiten, da wie oben erwähnt, Schwierigkeiten hinsichtlich der Bewurzelung auftreten, sobald die Kallusbildung zu rege wird. Man könnte daraus schließen, daß in der aktiv wachsenden Kallus-

kultur nicht unbedingt die günstigsten Verhältnisse vorliegen, die Wurzelbildung zu induzieren. Zum anderen sollte der Versuch in der Gewebekultur möglichst ähnlich wie ein Steckversuch in der Praxis ablaufen. Aus diesen Gründen wurde die Kultur kleiner Internodienstücke der Kirschlorbees der reinen Kalluskultur vorgezogen.

Die erste Wachstumsphase, die durch einen relativ hohen Auxinspiegel einen Impuls erfährt, soll durch Eintauchen in Hormonlösung induziert werden. Die Kultur erfolgt dann auf einem wesentlich niedrigeren Auxinniveau, was nach WINTON (1968) die Wurzel differenzierung beeinflussen soll.

In diesem Versuch wurden IBS und BA verwendet. Auf die Wechselwirkung dieser beiden Hormone wurde schon in der Literaturübersicht hingewiesen.

Diese Untersuchung sollte folgende Fragen klären:

1. Bilden sich an den Internodiensegmenten von *P. avium* und *P. pseudocerasus* in der Sterilkultur Wurzeln?
2. Welchen Einfluß übt die Tauchbehandlung des Stecklings in verschieden konzentrierten Hormonlösungen auf seine Adventivwurzelbildung aus?
3. Spielt die Dauer der Tauchbehandlung eine Rolle?
4. Gibt es einen Unterschied im Wurzelbildungsverhalten zwischen dem ersten Internodium von der Spitze und dem 15 cm weiter basal gelegenen?

3.2. Methode

240 Stück 15 cm langer Steckhölzer sowohl von *P. avium* als auch von *P. pseudocerasus* wurden im Dezember geschnitten und in 12 Gruppen zu je 20 Steckhölzern eingeteilt. Anschließend wurden sie getaucht, wobei jede Gruppe ihr spezielles Verfahren hatte. (siehe Tab. 1)

Tabelle 1:

Tauchzeiten und verschiedene Hormonkonzentrationen
(Versuchsanordnung)

		Tauchzeit			
		1 Min.	30 Min.	1 Std.	5 Std.
IBS/BA in ppm	10/0,1	x	x	x	x
	100/1	x	x	x	x
	1000/10	x	x	x	x

Erklärung: x besagt, daß diese Kombination untersucht wurde.

Das Verhältnis von IBS/BA 1:100 (SAAVEDRA, 1971) wurde immer konstant gehalten. Diese Proportion war bei *Malus* entscheidend.

Nach dem Tauchen wurden jedem Trieb je zwei Segmente des ersten und des letzten Internodiums von der Basis her entnommen und auf die Nährlösung mit 0,4 ppm IBS gesetzt (SAAVEDRA, unveröffentlicht, wurzelfördernde Konzentration). Jede Serie hatte zehn Wiederholungen, fünf von der Basis und fünf von der Spitze.

3.3. Ergebnis

3.3.1. Kalluswachstum

Etwa drei Tage nach dem Einsetzen der Triebstücke ließ sich an den Schnittstellen und an den Lentizellen eine Zellteilung beobachten. Der Kambiumring scholl an und nach einer Woche waren die beiden Enden mit Kallus überzogen. Verfolgt man die Entwicklung weiter, so bildete sich der Kallus je nach Kirschart weiter aus. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, war das Wachstum bei *P. avium* bald abgeschlossen und die Kalluskappen an den Segmentenden hatten ein weißes schneeeartiges Aussehen. Nach ungefähr zwei Monaten waren die Triebstücke braun und trocken.

P. pseudocerasus entwickelte eine etwas größere Kallusmasse, die höckerartig aus den Triebstückenden auswuchs. Ihre Dicke schwankte zwischen 2 und 4 mm.

3.3.2. Polarität

Bei beiden Kirscharten war anfangs an der apikalen Schnittfläche weniger Kallus ausgebildet und wenn eine Wurzelbildung erfolgte, so war das stets am basalen Ende. Die Polarität ist also an den Segmenten voll erhalten geblieben (PIERIK, 1971).

3.3.3. Wurzelbildung

Nach drei Wochen Kultur traten die ersten Wurzeln auf. Die eingesetzten Segmente wurden vier Monate hindurch unter dem Stereomikroskop auf Wurzeln hin untersucht. Das Resultat ist in den Tabellen 2 a - 2 c abzulesen.

Tabellen 2a - 2b

Bewurzelung in % der Triebsegmente in Abhängigkeit von Tauchzeit und Hormonkonzentration beim Tauchen und bei nachfolgender in vitro Kultur auf 0,4 ppm IBS (Gläserzahl pro Serie 10)

Tabelle 2a

Hormonkonzentration	10 ppm IBS / 0,1 ppm BA			
Tauchzeit	1 Minute	30 Minuten	1 Stunde	5 Stunden
Ausfall	40 (70)	30 (50)	60 (10)	40 (30)
bewurzelt	50 (0)	60 (0)	30 (0)	50 (20)
unbewurzelt	10 (30)	10 (50)	10 (90)	10 (50)
Bewurzelung	83,3 (0)	85,7 (0)	75 (0)	83,3 (28,6)

Tabelle 2b

Hormonkonzentration	100 ppm IBS / 1 ppm BA			
Tauchzeit	1 Minute	30 Minuten	1 Stunde	5 Stunden
Ausfall	10 (20)	20 (40)	20 (10)	20 (50)
bewurzelt	40 (0)	10 (0)	80 (0)	60 (0)
unbewurzelt	50 (80)	70 (60)	0 (90)	20 (50)
Bewurzelung	44,4 (0)	14,3 (0)	100 (0)	75 (0)

Tabelle 2c

Hormonkonzentration	1000 ppm IBS / 1 ppm BA			
Tauchzeit	1 Minute	30 Minuten	1 Stunde	5 Stunden
Ausfall	20 (10)	0 (0)	20 (30)	20 (30)
bewurzelt	30 (0)	50 (0)	30 (0)	40 (0)
unbewurzelt	50 (90)	50 (100)	50 (70)	40 (70)
Bewurzelung	37,5 (0)	50 (0)	37,5 (0)	50 (0)

Erklärung: Die Zahlen ohne Klammer geben die Werte für *P. pseudocerasus* an. Die entsprechenden Angaben für *P. avium* sind eingeklammert.

Es fällt auf, daß *P. avium* im Gegensatz zu *P. pseudocerasus* auf keine Behandlungsmethode nennenswert reagiert hat. Ein kleiner Erfolg zeichnet sich bei der Gruppe 10 ppm IBS und 0,1 ppm BA und fünfstündigem Tauchen ab, wo sich von 10 Gläsern 2 mit Wurzeln beobachten ließen. Da in dieser Serie ein Ausfall durch Pilzbefall vorlag, wurden somit 28,6 % der gesunden Segmente bewurzelt.

Betrachtet man das Bewurzelungsergebnis der einzelnen Hormonstufen für *P. pseudocerasus*, so liegt es für die Gruppe 10 ppm IBS / 0,1 ppm BA bei durchschnittlich bei 81,8 %

In der Gruppe 100 ppm IBS / 1 ppm BA schwanken die Werte bei den verschiedenen Tauchzeiten sehr stark. Bei 1 Minute beträgt das Ergebnis 44,4 %, bei 30 Minuten 14,3 %, bei 1 Stunde 100 % und bei 5 Stunden 75 %.

Durchschnittlich 43,6 % der Triebstücke wurden in der Gruppe 1000 ppm IBS / 10 ppm BA bewurzelt.

Es scheint, daß bei der hohen Konzentration von mehr als 100 ppm IBS / 1 ppm BA das Optimum schon überschritten ist. Es könnte zwischen 10 und 100 ppm IBS und der entsprechenden BA-Konzentration liegen.

Die Tauchzeit hat sich bis auf die Hormonstufe 100 ppm IBS / 0,1 ppm BA in dieser Versuchsanordnung nicht sehr stark ausgewirkt, denn die Werte innerhalb einer Gruppe liegen relativ dicht beieinander.

Das Wachstum scheint von den unterschiedlichen Behandlungsmethoden unbeeinflusst geblieben zu sein. Man kann vermuten, daß der Tauchwirkung in dieser Beziehung keine sehr große Bedeutung zukommt.

3.3.4. Vergleich der Triebstücke der Spitze mit denen der Basis

Ein deutlicher Unterschied im Wurzel differenzierungsverhalten wie auch im Wachstum war zwischen den Triebstücken der Basis und der Spitze nicht zu verzeichnen. Die Frage, ob Wuchsstoffe in den Triebspitzen endogen stärker angereichert sind als weiter basälwärts, konnte auf diese Weise nicht geklärt werden.

3.4. Diskussion

Der in der Vorbemerkung beschriebene "Idealzustand", d.h. eine gedrosselte Aktivierung der Zellteilungsaktivität, wurde bei *P. avium* (Abb. 1) und *P. pseudocerasus* erreicht. Die Segmente hatten an ihren Schnittstellen nur etwas Kallus gebildet, was für die Differenzierung von Meristemoiden im Kambium-Phloembereich als relativ günstig zu betrachten ist. Zahlreiche Versuche mit höheren Hormonkonzentrationen bei verschiedenen *Prunus*-arten, welche zur Produktion großer Kallusklumpen führten, haben bei 1 - 2 monatiger Kultur nie eine Wurzelbildung ausgelöst (FEUCHT, unpubliziert).

Während die Behandlungsmethode bei *P. pseudocerasus* zu guten Ergebnissen führte, zeigte der Versuch für *P. avium* lediglich, daß die Potenz für eine Bewurzelung *in vitro* vorhanden ist. Die wenigen Wurzeln, die sich an *P. avium* bildeten, können nicht einer bestimmten Behandlungsmethode zugeschrieben werden.

Normalerweise lösen steigende Cytokinin-Konzentrationen mehr Zellteilung aus (FOSKET und SHORT, 1973; FOSKET und TORREY, 1969). Aber in dieser Hinsicht konnte weder auf das Wachstum noch auf die Wurzelentwicklung eine Wirkung bemerkt werden. Es scheint eher so, daß beim Tauchprozeß weder die Hormonkonzentration noch die Tauchzeit einen Einfluß auf die Wurzelbildung nimmt, sondern daß eher die Kultur auf 0,4 ppm IBS den günstigsten Einfluß zumindest bei *P. pseudocerasus* ausübt.

In Parallele zu den beiden *Prunus*-arten finden FADL und HARTMANN (1967) bei der Birnensorte Bartlett eine sehr schwache Bewurzelungsfähigkeit, verglichen mit der gut wurzelnden Sorte Old Home. Sie schließen daraus, daß bei Bartlett Inhibitoren synthetisiert werden.

4. Versuche zur Beeinflussung der genetischen Kontrolle der Wurzelbildung

4.1. Problemstellung

Die gehemmte Adventivwurzelbildung bei *P. avium* ist sehr wahrscheinlich nicht allein ein Problem endogener Wuchs- oder Hemmstoffe, sondern auch genetischer Art.

Die in der DNS enthaltene genetische Information wird zunächst auf die RNS übertragen. Diesen Vorgang nennt man Transkription. Die RNS überträgt die genetische Information zu den Ribosomen des Cytoplasmas. Diese synthetisieren nach der ihnen übermittelten Matrix die Polypeptide. Dieser zweite Schritt von der m-RNS zum Polypeptid ist die Translation. Das auf diese Weise entstandene Polypeptid kann ein Enzymprotein oder ein Teil eines solchen sein, das eine bestimmte Stoffwechselreaktion katalysiert. In der Regel arbeiten viele solcher DNS-gesteuerten Enzymproteine zusammen bis es schließlich zur Ausbildung eines bestimmten Merkmals kommt (HESS, 1970).

Veränderungen im Ablauf der Transkription oder der Translation durch Applikation chemischer Substanzen könnten die Merkmalsbildung in andere Bahnen lenken, wobei möglicherweise die schwierigen Bewurzelungsverhältnisse für *P. avium* ins Positive gekehrt werden können.

Actinomycin-D stellt einen Hemmstoff der Transkription und Chloramphenicol einen Hemmstoff der Translation dar. Mit Hilfe dieser beiden Stoffe soll geprüft werden, ob eine Steuerung dieser Vorgänge von außen realisierbar ist.

Im Einzelnen wurde untersucht:

1. Kann durch Zugabe der beiden Stoffe einzeln oder in Kombination eine Veränderung im Wurzelbildungsverhalten bei *P. avium* erreicht werden?
2. In welchen Konzentrationen müssen die Stoffe der in vitro Kultur zugegeben werden?
3. Welche Reaktion hat eine Auxinspritzung nach 3 Wochen?

4.2. Methode

Im März 1972 wurden Triebe von *P. avium* geschnitten. In der Impfkammer wurden die Triebsegmente auf das modifizierte MURASHIGE-SK00G-Medium eingesetzt, dem verschiedene Konzentrationen Actinomycin-D und Chloramphenicol zugegeben waren. Ansonsten wurden keine weiteren Stoffe verwendet. Die Substanzen wurden einzeln und in Kombination in den Konzentrationen 0,01, 0,1, 1 und 10 ppm nach folgendem Schema geprüft:

Tabelle 3

Untersuchte Actinomycin-D-und Chloramphenicol-Kombinationen bei verschiedenen Konzentrationen

		Actinomycin-D in ppm				
Chloramphenicol (in ppm)		0	0,01	0,1	1	10
	0	x	x	x	x	x
	0,01	x	x	x	x	x
	0,1	x	x	x	x	x
	1	x	x	x	x	x
	10	x	x	x	x	x

Erklärung: siehe Seite 14

Jede Kombination hatte 6 Wiederholungen. Nach 3 Wochen wurden die Serien halbiert. Der einen Halbserie wurde unter sterilen Bedingungen 0,4 ppm IBS hinzugefügt (0,4 ppm IBS sollen optimal sein, vgl. S. 14). Der Versuch wurde 5 Monate hindurch beobachtet.

4.3. Ergebnisse

Wurzeln konnten während der ganzen Versuchsdauer nicht beobachtet werden. Es war kein Unterschied zwischen der Kontrolle, den verschiedenen Wirkstoffstufen und den mit 0,4 ppm IBS nachbehandelten Segmenten zu bemerken. Auch hinsichtlich des Wachstums traten keine Unterschiede auf. Wie die Kontrolle, so liessen auch die behandelten Triebstücke nur eine schwache Zellteilungsaktivität erkennen, die ohne Auxin induziert worden war. Es bildete sich an allen Segmenten an den Enden eine kleine Kalluskappe. Die Segmente selbst hatten einen schneeweißen Überzug, der an einen Haarpelz erinnert. Hierbei handelt es sich um gestreckte Zellen des Rindenparenchyms, mit einzelnen Zellteilungen (FEUCHT und KHAN, 1973).

4.4. Diskussion

Die eingesetzten Segmente von *P. avium* ließen keine unterschiedliche Reaktion auf Actinomycin-D, Chloramphenicol oder auf beide zusammen erkennen. Auch gegenüber der Kontrolle konnten keine Veränderungen festgestellt werden. Somit besteht kein Einfluß auf Peroxydasen, welche eventuell endogene Auxine zerstören.

Eines steht demnach fest, nur mit Actinomycin-D und Chloramphenicol einzeln oder kombiniert appliziert, kann keine positive Veränderung im Bewurzelungsverhalten induziert werden. JAIN und NANDA (1972) fanden an *Salix tetrasperma* eine Hemmung der Wurzelbildung durch Actinomycin-D, die sich durch steigende Konzentrationen verstärkte. Ein hemmender Einfluß konnte im Fall der Kirschtriebe nicht nachgewiesen werden, da die Wurzelinduktion auch bei der Kontrolle ausblieb.

Eine Erklärung für das negative Ergebnis dieses Versuches ist vielleicht auf den vorläufigen Verzicht von exogen zugeführtem Auxin zurückzuführen. Das Auxin wurde zunächst bewußt weggelassen, um vorweg mögliche Enzyme zu blockieren, welche das Auxin inaktivieren könnten.

Die erhoffte Wirkung einer nachträglichen Auxinapplikation blieb allerdings auch aus.

Es bestehen jedoch die Möglichkeiten, daß Vitamine bereits aufgebraucht waren (BERGMANN und BERGMANN, 1968) und daß das Optimum bei den Konzentrationen von 0,01 - 10 ppm Actinomycin-D und Chloramphenicol bereits überschritten war.

5. DOPA-Versuch

5.1. Problemstellung

Nach Jahrzehnten intensiver Bemühungen wird heute die IES als natives Pflanzenauxin angesehen (MOHR, 1969; ELIASSON, 1969; SCHRAUDOLF, 1973;). Die Beteiligung dieses Stoffes an Wurzelbildungsprozessen ist nicht immer eindeutig sondern sehr vielschichtig (JACKSON und HARNEY, 1970; GREENWOOD und GOLDSMITH, 1970; BASOCCU, 1972).

IES ist jedoch eine in wässriger Lösung sehr wenig stabile und licht- sowie oxydationsempfindliche Substanz, was eine exogene Applikation erschwert. Außerdem wird sie in Prunusgewebe relativ rasch zerstört (FEUCHT und FORCHE, 1973), - wie QUOIRIN, BOXUS und GASPARD (1974) feststellen, durch katalytische Isoenzyme der Peroxydasen.

FEUCHT und FORCHE (1973) machen darauf aufmerksam, daß das ortho-Dihydroxyphenol die IES-Wirkung zu stabilisieren vermag. So war es naheliegend, beide Substanzen zusammen zu applizieren.

Der folgende Versuch soll klären:

1. Hat die IES einen rhizogenen Einfluß auf die beiden Kirscharten?
2. Kann DOPA zusammen mit IES die Wurzelbildung induzieren?
3. Wie wirkt sich die IES auf das Kalluswachstum aus?
4. Kann DOPA das IES-induzierte Wachstum additiv unterstützen?

5.2. Methode

Die Internodienstücke beider Kirscharten wurden am 12.7.73 auf bekanntem Nährmedium kultiviert, dem nach folgendem Schema die zu testenden Substanzen zugefügt wurden:

1	ppm IES	+	0,1	ppm BA	+	20	ppm DOPA		
1	"	"	+	"	"	"	"		
10	"	"	+	"	"	"	+	20	ppm DOPA
10	"	"	+	"	"	"	"	"	"

Von jeder Gruppe wurden 8 Gläser mit Avium- und 8 Gläser mit

Pseudocerasus-Triebstücken hergestellt. Nach 5 Wochen wurden Wurzeln gezählt. Der Versuch wurde nach insgesamt 3 Monaten abgeschlossen. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Wurzeln nochmals gezählt und anschließend das Gewicht des gewachsenen Kallus ermittelt.

5.3. Ergebnisse

5.3.1. Wurzelbildung

Die Zahl der differenzierten Wurzeln ist in der Tabelle 4 festgehalten.

Tabelle 4

Anzahl der Wurzeln in Abhängigkeit von IES und DOPA
(Gläserzahl pro Serie 8)

Kirschart	1 ppm IES 20 ppm DOPA	1 ppm IES	10 ppm IES 20 ppm DOPA	10 ppm IES
P. av.	1 / 1	0	0	0
P.ps.	4 / 4	0	3 / 4	4 / 9

Erklärung zu dieser und allen folgenden Tabellen, die die Wurzelzahl betreffen:

die linke obere Zahl bedeutet die Anzahl der Gläser einer Serie, die Wurzeln enthalten

die rechte untere Zahl zeigt die Anzahl aller Wurzeln in den Gläsern einer Serie an.

Die Wurzeln bei P. pseudocerasus waren alle zum ersten Auszähltermin nach 5 Wochen ausgebildet. Bis auf die Hormonzugabe von 1 ppm IES ohne DOPA konnte in allen Fällen eine Wurzelbildung beobachtet werden.

P. avium dagegen entwickelte nur eine einzige Wurzel bei

der Konzentration 1 ppm IES und DOPA. Diese Wurzel konnte erst nach 3 Monaten bei Abschluß des Versuchs festgestellt werden. Sehr wahrscheinlich erfolgte ihre Entwicklung unabhängig von der Behandlung.

5.3.2. Kalluswachstum

Das Kalluswachstum wurde nach 3 Monaten gemessen. Die durchschnittlichen Werte sind in Tabelle 5 abzulesen.

Tabelle 5

Kalluswachstum in Gramm in Abhängigkeit von DOPA und IES

Kirschart	1 ppm IES 20 ppm DOPA	1 ppm IES	10 ppm IES 20 ppm DOPA	10 ppm IES
P. av.	0,73	0,37	0,84	1,10
P. ps.	1,55	0,64	2,17	2,24

Das Wachstum des Kallus beider Kirscharten wird durch die Zugabe von 10 ppm IES gegenüber 1 ppm IES eindeutig gesteigert. Dabei spielt es keine Rolle, ob DOPA hinzugefügt wurde oder nicht.

Die die IES additiv unterstützende Wirkung von DOPA wird deutlich bei 1 ppm IES. *P. avium* erfährt durch die DOPA-Zugabe eine Wachstumssteigerung von ca. 0,36 g, *P. pseudocerasus* sogar von 0,9 g. Bei 10 ppm IES kann dagegen eine Senkung des Wachstums durch DOPA beobachtet werden. Bei *P. avium* handelt es sich um 0,26 g, bei *P. pseudocerasus* um 0,08 g.

5.4. Diskussion

Die rhizogene Wirkung der IES allein und zusammen mit DOPA konnte in diesem Versuch für *P. avium* nicht nachgewiesen werden. Bei DOPA deutet sich für *P. pseudocerasus* und 1 ppm IES / DOPA eine Wirkung an, dies war jedoch bei der schwierig zu bewurzelnden *P. avium* nicht der Fall, weshalb dieser Versuch nicht weitergeführt wurde. Anders ist es bei *Topinamburrhizom*-gewebe, das durch DOPA zusammen mit IES einen wurzelstimulierenden Effekt gegenüber der IES-Applikation allein ausübt (RÜCKER, 1971).

Dafür erfuhr das Kalluswachstum beider Kirscharten einen beachtlichen Zuwachs durch die Erhöhung der IES-Zugabe. In diesem Punkt kann eine Reaktion auf DOPA nicht geleugnet werden. Geht man davon aus, daß das Wachstum IES-abhängig ist, so kann man eine ausgezeichnete additive Unterstützung durch DOPA feststellen. Allerdings scheint eine bestimmte Balance dieser beiden Stoffe bedeutend, denn dieser Effekt war nur bei 1 ppm IES ausgeprägt vorhanden. Die Dosis von 10 ppm IES könnte schon hyperoptimal sein.

6. Kultur in verschiedenen Hormonlösungen

6.1. Problemstellung

In der folgenden Versuchsanordnung sollte ganz gezielt der Frage nach den geeignetsten Hormonen und den günstigsten Konzentrationen speziell für *P. avium* nachgegangen werden, denn jede Pflanze benötigt einen speziellen, endogenen oder exogen ergänzten Wuchsstoffspiegel, der die Voraussetzungen für den bestimmten Ablauf einer Morphogenese schafft.

Dabei geht man von der Annahme aus, daß die Wuchsstoffe einen Faktor darstellen, der möglichst vorrangig ins Optimum gebracht werden muß. Ist dieses Optimum einmal gefunden, hat man eine Basis, von der weitere Untersuchungen ausgehen können.

Im einzelnen soll geklärt werden:

1. Welches der Auxine IBS, NES und 2,4-D hat die beste rhizogene Wirkung auf die beiden Kirscharten?
2. In welcher Konzentration muß es der in vitro Kultur zugegeben werden?
3. Welche Wirkung kann man nach Zugabe von BA oder ABS in verschiedenen Konzentrationen beobachten?
4. Welche Hormonkonzentration ist die optimale?
5. Wie wirkt das gleiche Hormonniveau auf 4 Monate alten Kallus nach der Umsetzung?
6. Welchen Effekt hat eine Hormonabsenkung auf den umgesetzten Kallus?
7. Gibt es jahreszeitlich bedingte Unterschiede im Bewurzelungsverhalten?

6.2. Methode

Der nachstehende Versuch wurde zwei Mal durchgeführt. Das erste Mal wurden Triebstücke beider Kirscharten im Februar eingesetzt, das zweite Mal im Juni. Im Februar wurden der Nährlösung folgende Phytohormone zugesetzt: IBS, 2,4-D, ABS und BA. Jedes Hormon wurde in den Konzentrationen 0,1, 1, 10 ppm untersucht. Im Juni wurde das Auxin 2,4-D gegen NES ausgetauscht. Die Stoffe wurden zunächst wie aus Tabelle 6 ersichtlich einzeln in den angegebenen Konzentrationen und anschließend kombiniert geprüft.

Tabelle 6 (Versuchsordnung)

Untersuchte Hormonkombinationen bei verschiedenen Konzentrationen (Februar)

		IBS in ppm			2,4-D in ppm			ABS in ppm			BA in ppm		
		0,1	1	10	0,1	1	10	0,1	1	10	0,1	1	10
ohne 2. Hormon		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
BA in ppm	0,1	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	1	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
ABS in ppm	0,1	x	x	x	x	x	x						
	1	x	x	x	x	x	x						
	10	x	x	x	x	x	x						

Tabelle 7: (Versuchsanordnung)

Untersuchte Hormonkombination bei verschiedenen Konzentrationen (Juni) *

		IBS in ppm			NES in ppm		
		0,1	1	10	0,1	1	10
BA in ppm	0,1	x	x	x	x	x	x
	1	x	x	x	x	x	x
	10	x	x	x	x	x	x
ABS in ppm	0,1	x	x	x	x	x	x
	1	x	x	x	x	x	x
	10	x	x	x	x	x	x

Erklärung: x besagt, daß diese Kombination untersucht wurde.

Von jeder Hormonkombination wurden 5 Gläser mit *P. avium*- und 5 Gläser mit *P. pseudocerasus*-Triebstücken angesetzt.

Nach jeweils fünf Monaten, d.h. im Juni bzw. im Oktober, wurde der inzwischen gewachsene Kallus ohne die Triebsegmente umgesetzt. Vorher wurde die Wurzelbildung kontrolliert. Die Umsetzung wurde folgendermaßen vorgenommen: die Hälfte des Kallus eines jeden Glases kam auf die gleiche aber frische Nährlösung mit den entsprechenden Hormonmengen. Die andere Hälfte wurde ebenfalls auf ein neu angesetztes Nährmedium gebracht, das allerdings nur 0,1 ppm des Auxins enthielt, auf dem er vorher kultiviert worden war. In jedes neue Glas kamen etwa 100 mg Kallus, der auf dem Filterpapier in kleine Stücke zerteilt wurde. Der Kallus beider Kirscharten hatte sich in der Zwischenzeit stark verbräunt. Aber wie die Subkultur später zeigte, war er durchaus lebensfähig und konnte neue, helle Kalluszellen produzieren.

Im Falle einer Wurzelbildung in der Subkultur sollte durch diese Maßnahme herausgefunden werden, ob allein das frische Medium und die Kalluszerkleinerung die Wurzelinduktion veranlaßt haben, oder ob die Hormonabsenkung die Bewurzelung beeinflußt hat.

Die Kombination ABS mit BA wurde in der Subkultur mangels Kalluswachstums nicht umgesetzt. Aus diesem Grund verzichtete man im Wiederholungsversuch von vornherein auf eine Kultivierung dieser Serie. In der Subkultur des Wiederholungsversuches wurde eine weitere Veränderung dahingehend vorgenommen, daß die Serien mit 0,1 ppm Auxin wegen des geringen Erfolges in dem Ausgangsversuch weggelassen wurden.

6.3. Ergebnisse - Wirkungen der verschiedenen Hormone auf Kalluswachstum und Wurzel differenzierung

6.3.1. IBS

Eine Überprüfung der Triebstücke einen Monat nach dem Einsetzen ergab folgendes Bild:

P. pseudocerasus reagierte im Kalluswachstum sehr stark auf die unterschiedliche IBS-Zufuhr. Bei 10 ppm IBS war das Wachstum sehr gut. Der Kallus hatte eine weiche feuchte Konsistenz und eine gelblich weiße Färbung.

1 ppm IBS erzeugt schon weniger Kallus und bei 0,1 ppm war das Wachstum so stark reduziert, daß die Segmente nur mit einem weißen, haarpelzartigen Kallus überzogen waren (vgl. S. 21). Wurzeln wurden nur bei 1 ppm IBS ausgebildet. (Tab. 8)

Bei P. avium war der Unterschied zwischen 10 ppm und 1 ppm IBS nicht ausgeprägt. Bei beiden Konzentrationen konnte man nur mittleres Wachstum beobachten. 0,1 ppm hatte die gleiche Wirkung bei P. avium wie bei P. pseudocerasus. Die Beschaffenheit des Avium-Kallus unterscheidet sich vom Pseudocerasus-kallus dadurch, daß sie fest und trocken ist.

Bei der Konzentration 1 ppm IBS trat auch hier eine Wurzel auf. Das Ergebnis ist in Tab. 8 zusammengefaßt.

Tabelle 8

Kalluswachstum und Wurzelzahl an Triebstücken in Abhängigkeit von IBS (Gläserzahl pro Serie 6)

	IBS in ppm	Ausfall (Pilz)	Kallus- wachstum	Wurzeln
P. pseudo- cerasus	0,1	1	schlecht	0
	1	2	gut	2 / 8
	10	3	sehr gut	0
P. avium	0,1	2	schlecht	0
	1	0	gut	1 / 1
	10	1	gut	0

Erklärung: siehe Seite 24

6.3.2. 2,4-D (s. Tab. 6)

Das Wachstum von *P. avium* blieb hinter dem von *P. pseudocerasus* zurück. Insgesamt gesehen war die Zellteilung jedoch bei 2,4-D in allen Konzentrationen um vieles stärker als bei den entsprechenden IBS-Konzentrationen. Wurzeln entwickelten sich weder bei *P. avium* noch bei *P. pseudocerasus*.

6.3.3. BA (s. Tab. 6)

P. pseudocerasus reagierte nur auf 10 ppm BA mit etwas besserem Wachstum. Sowohl bei den restlichen Konzentrationen als auch bei *P. avium* in allen drei Konzentrationen war das Wachstum ausgesprochen schlecht.

Wurzeln gab es bei dieser Behandlung nicht.

6.3.4. ABS (s. Tab. 6)

Die mit ABS behandelten Triebstücke verhalten sich ähnlich den mit BA applizierten Segmenten. In keinem Fall konnte eine stärkere Zellteilung oder Wurzelbildung beobachtet werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß nur die beiden Auxine Wachstum induzieren konnten, wobei 2,4-D die entschieden stärkere Wirkung zeigte als IBS. Schon nach relativ kurzer Zeit war die Kallusbildung so ausgeprägt, daß die Holzstückchen völlig in Kallus eingehüllt waren und der ganze Querschnitt des Glases davon ausgefüllt war. Derartiges Wachstum konnte nur noch bei 10 ppm IBS beobachtet werden.

Wurzelbildung war, wenn auch gering, bei beiden Kirscharten nur bei 1 ppm IBS möglich.

6.3.5. ABS und BA in Kombination mit 2,4-D (s. Tab. 6)

2,4-D mit BA oder ABS kombiniert führte in keinem Fall zu einer Wurzelbildung.

Die Abstufung der 2,4-D-Applikation ließ sich im Kalluswachstum beider Kirscharten verfolgen. Es zeigte sich aber, daß sich die Paarung 2,4-D mit ABS auf die Zellteilung vorteilhafter auswirkte als mit BA.

6.3.6. IBS zusammen mit ABS oder BA

Die Kombination IBS mit ABS wirkte sich wie Tabelle 9 zeigt, positiv auf *P. pseudocerasus* aus. Die Zugabe von 1 und 10 ppm IBS ließ zusammen mit allen drei ABS-Konzentrationen Wurzeln auftreten. Ein Unterschied zwischen 1 und 10 ppm IBS trat nicht zutage, dagegen scheint 1 ppm ABS die günstigste Dosis von den dreien zu sein.

Die Kombination der IBS und BA brachte nur in einem Fall - bei 1 ppm IBS / 0,1 ppm BA - eine Wurzel hervor.

P. avium lag in der Bewurzelungsaktivität weit hinter *P. pseudocerasus*. Es wurde nur bei 1 ppm IBS in Kombination mit 0,1 ppm BA und 0,1 ppm oder 1 ppm ABS je ein Glas mit Wurzeln ausgebildet.

Das Wachstum war vergleichbar mit dem der Behandlung 2,4-D kombiniert mit BA oder ABS, nur insgesamt etwas schwächer.

Tabelle 9

Wirkung der IBS in Verbindung mit BA oder ABS auf die Wurzelbildung (Gläser pro Serie 6; eingesetzt im Februar 1972)

			IBS in ppm							
			0,1	Ausfall	1	Ausfall	10	Ausfall		
<i>P. pseudocerasus</i>	BA in ppm	0,1	0	1	1	2	0	1		
		1	0	1	0	3	0	2		
		10	0	2	0	0	0	2		
	ABS in ppm	0,1	0	0	3	4	1	3	6	2
		1	1	1	4	8	1	4	14	1
		10	0	1	1	2	3	1	12	3
<i>P. avium</i>	BA in ppm	0,1	0	1	1	1	0	0	1	
		1	0	1	0	1	0	0	0	
		10	0	0	0	0	0	0	0	
	ABS in ppm	0,1	0	0	1	1	2	0	0	
		1	0	0	1	3	3	0	1	
		10	0	0	0	0	0	0	0	

Erklärung siehe Seite 24

6.3.7. Kombination ABS mit BA ohne Auxin

Diese Hormonkombination brachte keine Wurzeln hervor. Das Kalluswachstum erwies sich als minimal. Es gibt keinen Unterschied zwischen der Einzelanwendung dieser Hormone und ihrer

gemeinsamen Applikation. Die eingesetzten Triebstücke behielten lange ihr frisches, grünes Aussehen.

6.3.8. Subkultur

6.3.8.1. Umsetzung auf gleiches Hormonniveau

Die Ergebnisse der Umsetzung nach vier Monaten sind in Tabelle 10 zusammengetragen.

Auffällig ist, daß die Bereitschaft, Wurzeln zu bilden, in der Subkultur bei *P. pseudocerasus* etwas zurückgegangen ist, für *P. avium* sich aber erhöht hat.

Betrachtet man die IBS-Dosis, so nimmt bei beiden Kirscharten die Bewurzelung von 10 ppm nach 0,1 ppm hin ab und ABS erscheint als der günstigere Partner von IBS, wobei allerdings 10 ppm schon zuviel zu sein scheinen.

Tabelle 10

Wurzelbildung in der Subkultur auf gleichem Medium (s.Tab.9)

			IBS in ppm		
			0,1	1	10
<i>P. pseudocerasus</i>	BA in ppm	0,1	0	0	2 / 6
		1	0	0	0
		10	0	0	0
	ABS in ppm	0,1	0	2 / 5	1 / 5
		1	0	0	3 / 6
		10	0	0	2 / 2
<i>P. avium</i>	BA in ppm	0,1	0	2 / 5	1 / 3
		1	0	0	0
		10	0	0	0
	ABS in ppm	0,1	0	0	3 / 6
		1	0	0	1 / 1
		10	0	0	0

Erklärung siehe Seite 24

6.3.8.2. Subkultur auf verringertem Hormonniveau

Wie aus Tabelle 11 ersichtlich ist, wirkt sich die Verringerung der Hormone bei dem Kallus der vorher auf IBS und BA kultiviert worden war, günstiger aus als bei demjenigen, der auf IBS und ABS gewachsen war. Konnte man in der Internodienkultur mehr Wurzeln bei der Anwendung von IBS mit ABS beobachten, so zeigt sich jetzt mit nur 0,1 ppm IBS ein wirksamerer Effekt bei dem Kallus, der zuvor auf IBS mit BA gelegen war. Das deutet darauf hin, daß die BA-Konzentration 0,1 ppm in der vorausgegangenen Internodienkultur zu hoch war und somit die Wurzel differenzierung gehemmt hat. Jedenfalls scheint der optimale Wirkungsbereich von ABS bei einer höheren Konzentration zu liegen als der von BA.

Tabelle 11

Subkultur unter Zugabe von 0,1 ppm IBS

			IBS in ppm		
			0,1	1	10
P. pseudocerasus	BA in ppm	0,1	0	1 / 5	1 / 1
		1	0	0	2 / 6
		10	0	0	0
	ABS in ppm	0,1	0	2 / 4	0
		1	0	0	1 / 1
		10	0	0	0
P. avium	BA in ppm	0,1	0	1 / 4	1 / 1
		1	0	0	2 / 25
		10	0	0	1 / 1
	ABS in ppm	0,1	0	0	1 / 3
		1	0	0	0
		10	0	0	0

Erklärung siehe Seite 24

Die aus der Tabelle ersichtlichen Hormone und Konzentrationen geben nur das ursprüngliche Hormonniveau an.

6.3.9. Wiederholungsversuch im Juni

Die Wirkung der IBS im Wiederholungsversuch ist, wie Tabelle 12 zeigt, bezogen auf P. pseudocerasus ähnlich wie im ersten Versuch (vgl. Tab. 9). Bei P. avium wurden diesmal überhaupt keine Wurzeln ausgebildet.

2,4-D wurde in diesem Versuch durch NES (s. Tab. 6 und 7) ersetzt. Die Wurzelbildung war eindeutig besser als bei 2,4-D. Der optimale Wirkungsbereich liegt für NES niedriger als für IBS. Aus Tabelle 12 geht hervor, daß Wurzeln sowohl bei P. pseudocerasus als auch bei P. avium bei den Konzentrationen 0,1 und 1 ppm gebildet werden.

Auch zusammen mit NES wirkte BA nur bei 0,1 ppm und zwar bei beiden Kirscharten. Die Konzentration 1 ppm NES und 0,1 ppm BA scheint für P. avium sogar recht günstig zu sein, denn es hatten sich immerhin in drei von fünf Gläsern Wurzeln gebildet. NES / ABS hatte auf beide Kirscharten wenig bis keinen Einfluß. P. avium bildete in keinem Fall Wurzeln. P. pseudocerasus brachte bei 0,1 ppm NES / 0,1 ppm ABS und 1 ppm NES / 1 ppm ABS Wurzeln hervor.

Vergleicht man die Hormone miteinander, so scheint NES / BA die positivere Wirkung auf P. avium zu haben. P. pseudocerasus reagiert dagegen besser auf IBS / ABS.

6.3.10. Subkultur des Wiederholungsversuches im Oktober

Auf die Umsetzung der Serien mit 0,1 ppm IBS und NES mußte verzichtet werden, da die Kallusmenge nicht ausreichend war.

Was schon in der Subkultur des ersten Versuches auffiel, trat auch in der Wiederholung ein. Der Kallus von P. avium bewurzelte sich leichter als die Triebsegmente.

Tabelle 12

Wirkung von IBS und NES in Verbindung mit BA oder ABS auf die Wurzelbildung im Wiederholungsversuch (Gläserzahl pro Serie 5), eingesetzt im Juni 1972

			IBS in ppm						NES in ppm					
			0,1	Ausfall	1	Ausfall	10	Ausfall	0,1	Ausfall	1	Ausfall	10	Ausfall
P. pseudocerasus	BA in ppm	0,1	0	3	1 2	2	3 7	2	3 7	1	4 8	1	0	0
		1	0	1	0	1	0	1	0	3	0	2	0	1
		10	0	2	0	2	0	2	0	0	0	1	0	1
	ABS in ppm	0,1	0	0	4 8	1	3 12	0	4 7	0	0	4	0	2
		1	0	1	5 14	-	1 6	1	0	2	1 3	1	0	2
		10	0	2	3 22	1	0	0	0	1	-	0	0	1
P. avium	BA in ppm	0,1	0	4	0	3	0	2	1 1	2	3 5	0	0	3
		1	0	2	0	1	-	5	0	0	0	1	0	3
		10	0	4	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1
	In Kombination mit ABS traten keine Wurzeln auf													

Erklärung siehe Seite 24

6.3.10.1. Subkultur auf gleichem Hormonniveau

Wie aus Tabelle 13 hervorgeht, ist die Tendenz des Wiederholungsversuches gleich der des Ausgangsversuches (s. Tab. 10). Es werden Wurzeln bei beiden Kirscharten bei den Konzentrationen 1 und 10 ppm IBS zusammen mit 0,1 ppm BA oder 0,1 und 1 ppm ABS beobachtet.

Auf Zugabe von 1 ppm NES traten ebenfalls Wurzeln auf. Aber während P. avium an Triebstücken nur bei Vorhandensein von 0,1 ppm BA Wurzeln differenzierte, traten sie in der Subkultur nur in Verbindung mit 0,1 und 1 ppm ABS auf.

Tabelle 13

Wurzelbildung in der Subkultur auf gleichem Medium (Gläserzahl pro Serie 5)

			IBS in ppm		NES in ppm	
			1	10	1	10
P. pseudocerasus	BA in ppm	0,1	0	3 12	2 2	0
		1	0	0	0	0
		10	0	0	0	0
	ABS in ppm	0,1	0	5 14	0	0
		1	0	2 3	4 14	0
		10	0	0	0	0
P. avium	BA in ppm	0,1	2 2	1 4	0	0
		1	0	0	0	0
		10	0	0	0	0
	ABS in ppm	0,1	0	2 5	2 7	0
		1	0	0	3 10	0
		10	0	0	0	0

6.3.10.2. Subkultur auf verringertem Hormonniveau

Die Verringerung des Hormonspiegels hat für den Avium-Kallus, der auf IBS gewachsen ist, keine große Bedeutung. Damit ist das Ergebnis der Wiederholung etwas ungünstiger ausgefallen als im ersten Versuch (vgl. Tab. 11). Allerdings reagiert der auf NES kultivierte Kallus recht gut darauf. Wie in Tabelle 14 abzulesen ist, kann man sogar eine 100%ige Bewurzelung der Gewebestückchen beobachten, die ursprünglich auf 1 ppm NES und 1 ppm BA gehalten wurden.

P. pseudocerasus erfährt durch die Hormonabsenkung eine Abschwächung der Wurzelbildungsaktivität.

Tab. 14

Wurzelbildung in der Subkultur auf 0,1 ppm Auxin (Gläserzahl pro Serie 5)

			IBS in ppm		NES in ppm	
			1	10	1	10
P. pseudocerasus	BA in ppm	0,1	0	2	1	0
		1	0	0	1	0
		10	0	0	0	0
	ABS in ppm	0,1	0	1	0	0
		1	0	3	0	0
		10	0	1	0	1
	BA in ppm	0,1	0	0	0	0
		1	0	0	5	0
		10	0	0	0	0
P. avium	ABS in ppm	0,1	0	1	2	0
		1	0	0	1	0
		10	0	0	0	0
	BA in ppm	0,1	0	0	0	0
		1	0	0	0	0
		10	0	0	0	0

Erklärung siehe Seite 35

6.3.11. Vergleich der beiden Versuche vom Februar und Juni

An Aviumtriebstücken, die mit IBS behandelt wurden, entwickelten sich nur im Februarversuch - wenn auch nur sehr wenige - Wurzeln. Allerdings konnten bei der NES-Behandlung im Juni Wurzeln gezählt werden (vgl. Tab. 9 und 12). Bei Pseudocerasustriebstücken konnte zu beiden Terminen kein wesentlicher Unterschied im Bewurzelungsverhalten festgestellt werden.

In der Subkultur auf gleichem Medium ließen sich bei beiden Kirscharten keine gravierenden Differenzen feststellen, wie der Vergleich der Tabellen 10 mit 13 zeigt.

Pseudocerasus-Kallus reagiert in der Subkultur auf ver-
ringelter Hormonstufe zu beiden Terminen wieder in gleicher
Weise, dagegen zeigt Avium-Kallus im Ausgangsversuch etwas
günstigere Ergebnisse, dafür ist aber im Sommer die Wurzelent-
wicklung auf der verringerten NES-Stufe ausgesprochen gut
(Tab. 11 und 14).

6.4. Diskussion

Durch die vorliegende Untersuchung konnte gezeigt werden,
daß die Auxine IBS, NES und 2,4-D in ihrer rhizogenen Wirkung
auf die beiden geprüften Kirscharten Unterschiede aufweisen.
Während 2,4-D ganz gleich in welcher Konzentration und Kombi-
nation bei keiner der beiden Kirscharten Wurzelbildung induzie-
ren konnte, reagierten Pseudoceraus-Triebstücke besser auf IBS
als auf NES. Avium-Segmente dagegen scheinen besser auf
NES als auf IBS anzusprechen. Diese artspezifischen Reaktionen
auf die verschiedenen Auxine wurden schon von JAUHARI und KOHLI
(1960), SCARAMUZZI, LORETI und FIORINO (1963), HEIDE (1965) und
RAO, HANDRO und HARADA (1973) beobachtet.

Die starke Wachstumsaktivität, die durch 2,4-D bei beiden
Kirscharten induziert wird, läßt die Vermutung zu, daß mög-
licherweise intensive Gewebezunahme und Wurzelbildung im umge-
kehrten Verhältnis zueinander stehen. Es könnte sein, daß die
verwendeten Konzentrationen für 2,4-D zu hoch waren. WINTON
(1968) berichtet von einem Bewurzelungserfolg an Zitterpappel-
Kallus, dem eine 2,4-D-Absenkung auf 0,04 ppm vorausgehen mußte.

Der Versuch hat gezeigt, daß sich die Konzentrationen von
IBS und NES hinsichtlich ihrer Wirkintensität unterscheiden.
IBS bedarf einer höheren Dosis als NES, damit die Wurzeldifferen-
zierung ablaufen kann. In gleicher Weise reagieren Asparagus
(ANDREASSON und ELLISON, 1967) und Dracaena deremensis (SASSO
und BASOCCU, 1972).

Zusammen mit den Auxinen wurde die Abscisinsäure und das Kinetin BA geprüft. Diese beiden Stoffe wirken auf beide Kirscharten ebenfalls unterschiedlich. Eindeutig ist, daß die Kombination IBS mit ABS auf *P. pseudocerasus* eine günstigere Wirkung hat als IBS mit BA. Allerdings unterscheiden sich BA und ABS in der Kombination mit NES nicht wesentlich von einander.

Wegen der wenigen Wurzeln, die *P. avium* gebildet hat, ist es schwierig, eine eindeutige Entscheidung zu treffen, welches Hormon sich am günstigsten auf die Adventivwurzelbildung auswirkt. Die Kombination 1 ppm NES und 0,1 ppm BA scheint einen günstigen Einfluß zu haben, da der Bewurzelungsprozentsatz immerhin 60 % beträgt (vgl. Tab. 12).

Es deutet sich hier an, daß die Hormondosis für *P. avium* eine ganz enge Bandbreite hat. Wie die Tabelle 12 zeigt, kann an *P. pseudocerasus* die Bewurzelung durch mehrere nahe beieinander liegende Hormonkombinationen induziert werden. *P. avium* dagegen scheint auf eine bestimmte, eng begrenzte Wachstoffsstoffkombination festgelegt zu sein.

Die Anwesenheit von IBS oder NES im Nährmedium scheint unerlässlich zu sein, denn die Kontrolle ohne Auxin und der Versuch, in dem BA mit ABS kombiniert wurde, brachten weder bei *P. avium* noch bei *P. pseudocerasus* Wurzeln. Das beweist, daß Auxin für die beiden Kirscharten einen Bewurzelungsfaktor darstellt. Die geringe Bewurzelungsleistung von *P. avium* spricht allerdings dafür, daß das Auxin nicht der einzige ist (VAN OVERBEEK und GREGORY, 1945).

Die Subkultur des gebildeten Kallus bringt deutliche Unterschiede zwischen den beiden Kirscharten zutage. Die Fähigkeit, Wurzeln zu bilden, geht *P. pseudocerasus*-Kallus verloren, dafür wird sie für *P. avium* gesteigert. Möglicherweise beweist diese Reaktion, daß in *P. pseudocerasus*-Trieben endogen wurzeldifferenzierende Stoffe enthalten sind, die dem Kallus fehlen. Legt man die Theorie zugrunde, daß im Kallus weniger Stoffe vorhanden sind, als im Ausgangsgewebe (Verdünnungseffekt) könnte man zu dem Schluß kommen, daß die blockierte Rhizogenese von

Avium-Trieben ihre Ursache in endogen enthaltenen Hemmstoffen hat, die im Kallus nicht mehr zur Wirkung kommen.

Die schon in der Internodienkultur festgestellte Vorliebe für ein bestimmtes Auxin kommt in der Subkultur bei *P.pseudocerasus* wieder zum Tragen. Als weitere Hormonkomponente nimmt ABS wieder die Vorrangstellung vor BA ein. Bei Avium-Kallus hingegen läßt sich die Vorliebe für NES und BA nicht mehr eindeutig nachweisen, wenn der Kallus auf dem gleichen Hormonniveau kultiviert wird wie die Triebstücke. Es lassen sich sogar gute Erfolge mit ABS erzielen. Da sich bei beiden Hormonbehandlungen Wurzeln einstellten, könnte auch eventuell ein Wundeffekt, der durch das Abtrennen des Kallus vom Internodienstück und durch seine Zerteilung auftritt, die Ursache sein. Dieser Effekt würde das Hormonproblem überlagern. Nach BASTIN (1968) besteht die Möglichkeit, daß durch einen Schnitt die RNS- und Proteinsynthese gefördert wird. Er hält dieses Phänomen für einen der ersten biochemischen Prozesse der Wurzelbildung.

Man kann ferner vermuten, daß *P.avium* für eine Wurzel differenzierung nicht soviel Auxin benötigt wie *P.pseudocerasus*, denn der Avium-Kallus wurzelt besser, wenn das Hormonniveau in der Subkultur verringert ist. Die Reaktion von *P.pseudocerasus* ist entgegengesetzt. Der positive Effekt einer Hormonabwesenheit auf die Organdifferenzierung wird von WINTON (1968) und von FEUCHT und DAUSFND (1972) erwähnt.

Termine: Ein wesentlicher Unterschied zwischen den im Februar und im Juni angestellten Untersuchungen bei *P.pseudocerasus* war nicht feststellbar, was für die Erforschung der Probleme mit der in vitro-Methode sprechen mag. *P.avium* ließe leichte Differenzen erkennen, die aber nicht termingebunden sein müssen.

Bei sehr kritischer Betrachtung allerdings könnte die Wurzelbildung wie sie hier erfolgt ist, auch unabhängig von der exogen zugegebenen Hormondosis abgelaufen sein. Eine definitive Entscheidung für eine Hormondosis fällt schwer angesichts der Tatsache, daß Avium-Kallus einmal ein gutes Bewurze-

lungsergebnis von 60 % bei 1 ppm NES und 1 ppm ABS und im anderen Fall von 100 % bei nur 0,1 ppm NES lieferte (siehe Tab. 14). Dabei ist zu bedenken, daß letzterer vorher auf 1 ppm NES und 1 ppm BA gewachsen war und demnach nie mit exogenem ABS in Berührung gekommen ist.

Aus diesem Versuch wurden für weitere Untersuchungen folgende Konsequenzen gezogen:

1. *P. avium* in der Internodienkultur zu bewurzeln, stößt zur Zeit noch auf nicht gelöste Schwierigkeiten.
2. Um *P. avium* in der Kalluskultur zu bewurzeln, bietet sich die Hormonkonzentration von 1 ppm NES und 0,01 ppm BA an.

III. Phenole

1. Literaturübersicht

Viele Veröffentlichungen deuten darauf hin, daß die Wurzelbildung nicht allein von Wachstumshormonen abhängt, sondern daß in den schwerwurzelnden Pflanzen noch unidentifizierte Hemmstoffe angereichert sein können, die die Wurzel differenzierung blockieren. SPIEGEL (1954, 1955) fand bei seinen Untersuchungen an Wein zwei Hemmstoffe, die sich vermutlich mit der Unterdrückung der Wurzelbildung in Zusammenhang bringen lassen. Die Qualität und Quantität der Bewurzelung konnte durch Auslaugen der Stecklinge mit Wasser gesteigert werden. Der im Wasser zurückgebliebene nicht identifizierte Hemmstoff wurde auf der leichtwurzelnden *Vitis vinifera* appliziert, die daraufhin nur mit einer schwachen Bewurzelung reagierte. Daraus kann man schließen, daß bei *Vitis berlandieri* ein größerer Hemmstoffgehalt für die geringen Bewurzelungsergebnisse verantwortlich ist. Ähnliches konnte RICHARDS (1964) an *Cammellia reticulata* und *japonica* im Mungbohnenstest nachweisen. Die schwerwurzelnde *C. reticulata* enthielt Stoffe, die die Wurzelbildung der Mungbohnenstecklinge herabsetzte. *C. japonica* enthielt indessen fördernde Substanzen. Pfropfversuche mit beiden Sorten machten diese Umstände deutlicher: *C. reticulata* auf *C. japonica* gepfropft blieb ohne Wirkung auf die Rhizogenese. Dagegen konnten im umgekehrten Fall gute Ergebnisse erzielt werden.

Die Bewurzelung hängt aber nicht allein von der An- oder Abwesenheit der Hemmstoffe ab. ODOM und CARPENTER (1965) fanden in fünf krautigen Pflanzen Hemmstoffe, konnten jedoch keine Korrelation zwischen ihrer Anwesenheit und der Bewurzelung der Stecklinge finden.

VIEITEZ und PENA (1968) untersuchten *Salix atrocinerea* während eines ganzen Jahres auf ihren Hemmstoffgehalt. Sie konnten aber während der ganzen Zeit keinen Hemmstoff nachweisen, obwohl die Weide jahreszeitlich bedingte unterschiedliche Bewurzelungsphasen hat.

Die Schwierigkeiten, die bei der Bewurzelung auftreten, lassen sich unter Umständen mit der Hemmstofftheorie erklären. Ein anderer Gesichtspunkt ist der, daß andere zum Teil auch noch nicht identifizierte Substanzen die Rhizogenese einleiten. WENT (1934) berichtet, daß das Entfernen der Knospen an Erbsenstecklingen nicht durch eine Auxinapplikation ersetzt werden kann. BOUILLENNE und WENT (1933) fanden endogene Stoffe, die sie wegen ihrer wurzelbildenden Fähigkeit Rhizokaline nannten.

VAN OVERBEEK, GREGORY (1945) und VAN OVERBEEK, GORDON und GREGORY (1946) machten Bewurzelungsexperimente mit Hibiskus, woraus sie schlossen, daß einige andere Substanzen zusätzlich zu Auxin für die Adventivwurzelbildung notwendig sind. Sie wiesen nach, daß diese Substanzen ihren Ursprung in den Blättern haben. Schon VAN DER LEK (1925) und WENT (1929) konnten die Wurzelbildung durch Entfernen der Knospen am Steckling unterdrücken. Dies wirkte sich besonders bei Pflanzen aus, die keine vorgeformten Wurzelprimordien hatten.

Der die Bewurzelung positiv beeinflussende Effekt der Knospen konnte während der Ruheperiode im Winter nicht beobachtet werden. Erst kurz vor Knospenaufbruch machte sich dieser Einfluß wieder bemerkbar (HOWARD, 1965). Der gleiche stimulierende Effekt konnte bei Blättern nachgewiesen werden (COOPER, 1938; RAPPAPORT, 1940). Blätter und Knospen scheinen hinsichtlich der Bewurzelung eine wichtige Stellung einzunehmen, da hier sowohl die Auxine als auch die noch nicht identifizierten Faktoren ihren Ursprung haben.

BOUILLENNE und BOUILLENNE-WALRAND (1955) vermuten, daß das Rhizokalin ein Komplex mit drei Komponenten ist:

1. ein spezifischer Faktor, der in den Blättern gebildet wird und chemisch ein ortho-Dihydroxyphenol darstellt
2. ein nicht spezifischer Faktor, das Auxin
3. ein spezifisches Enzym, das in Zellen und Geweben des Perizykels, des Phloems und des Kambiums lokalisiert ist und zum Typ der Polyphenoloxidasen gehören könnte.

Das o-Dihydroxyphenol reagiert zusammen mit Auxin unter Mitwirkung des Enzyms zum Rhizokalinkomplex, der die Voraussetzungen für eine Gewebedifferenzierung schafft.

HESS (1962, 1963) hat verschiedene Bewurzelungsfaktoren aus Stecklingen chromatographisch isoliert und an Mungbohnen auf ihren wurzelbildenden Einfluß geprüft. Er benutzte für seine Untersuchungen leicht- und schwerwurzelnde Formen von *Hedera helix*, *Chrysanthemum* und *Hibiscus*. Die endogenen Substanzen, die er fand, scheinen als Kofaktoren zur IES zu wirken. In den leichtwurzelnden Arten fand er eine Anreicherung dieser fördernden von ihm nicht identifizierten Stoffe.

CHALLENGER, LACEY und HOWARD (1964) und KAWASE (1964) konnten ebenfalls nicht-auxine Stoffe isolieren, die die Bewurzelung fördern können.

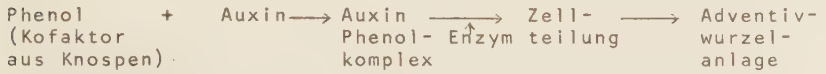
Untersuchungen des Kallus von *P. cerasus*, der sich gut bewurzelte, wiesen einen hohen Phenolgehalt nach (FEUCHT und DAUSEND, 1972).

BASTIN (1966) analysierte die quantitativen Relationen zwischen IES-ähnlichen Substanzen und dem Vorhandensein natürlich auftretender Komponenten. Die Ergebnisse lassen vermuten, daß die durch Auxin induzierten Wurzeln das Ergebnis einer gesteigerten Biosynthese der phenolischen Komponenten sind, die wiederum die Hemmstoffe des IES-Oxydase-Systems sind (PILET, 1964).

Zusammen mit Tryptophan sind die Phenole an der IES-Synthese beteiligt (GORTER, 1969). Dabei werden sie selber oxidiert. Wird diese Oxydation blockiert, kann die Organdifferenzierung nicht stattfinden (GORDON und PALEG, 1961; POAPST und DURKEE, 1967).

FADL und HARTMANN (1967, 1967) isolierten einen endogenen wurzelfördernden Faktor aus dem basalen Abschnitt von Birnensteckhölzern. Dieser hochaktiv fördernde Stoff tritt nur bei Steckhölzern auf, die noch Knospen haben, mit IBS behandelt wurden und dann zehn Tage im Stecksubstrat gesteckt haben. Extrakte von Basalsegmenten schwerwurzelnder Sorten enthielten diesen Kofaktor nach gleicher Behandlung nicht. Die papierchromatographische Trennung dieser Extrakte und die UV-Spektalanalysen und die Infrarotspektroskopie der einzelnen Fraktionen deuten darauf hin, daß der Bewurzelungsfaktor ein hohes

Molekulargewicht besitzt und daß er das Kondensationsprodukt von Auxin und einer phenolischen Substanz ist, die in den Knospen produziert wird. Die Ausbildung der Wurzeln könnte nach folgendem Schema ablaufen:



Es wird deutlich, daß die Wurzelbildung von dem Zusammenwirken vieler ineinander greifener Systeme beeinflußt wird, was vermutlich immer komplizierter wird, je höher entwickelt eine Pflanze ist.

2. Vergleich der phenolischen Substanzen bei P. avium und P. pseudocerasus

2.1. Problemstellung

Die bisherigen Ergebnisse zeigen keinen eindeutigen Weg, wie das Problem der schwierigen Bewurzelbarkeit von P. avium auf exogenem Weg zu lösen ist. Weder die Zugabe von Phytohormonen noch der Versuch, in genetische Vorgänge einzugreifen, führte bei P. avium zum Erfolg.

Aus der Literaturübersicht geht hervor, daß die Phenole bedeutenden Einfluß auf Wurzeldifferenzierungsprozesse nehmen. Deshalb sollen im folgenden Teil dieser Arbeit die beiden Kirscharten P. avium und P. pseudocerasus auf ihren endogenen Phenolgehalt hin untersucht werden, denn es besteht die Möglichkeit, daß ein bestimmter Ablauf des Phenolstoffwechsels für die gehemmte Adventivwurzelbildung an Avium-Trieben verantwortlich ist.

Den folgenden Experimenten liegen deshalb nachstehende Aufgabenstellungen zugrunde:

1. Erarbeitung der Unterschiede im Phenolmuster der beiden Kirscharten in Trieben und Kallus mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie.
2. Vergleich der Phenolverteilung in Trieben und Kallus
3. Feststellung jahreszeitlich bedingter Unterschiede im Phenolmuster von Trieben und Kallus
4. Qualitative und quantitative Bestimmung der Flecken, durch die sich die eine oder andere Kirschart besonders auszeichnet.

2.2. Methode

Die chromatographischen Phenoluntersuchungen wurden zu drei verschiedenen Terminen durchgeführt.

Das zu prüfende Material, *P. pseudocerasus*- und *P. avium*-Triebe sowie deren Kallus, wurde mit einem Mixstab zerkleinert und in Methanol extrahiert, abgedampft und anschließend wieder auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Mit einer 5 μ l Pipette wurde der Extrakt auf 8 x 8 cm mit Zellulose beschichtete Glasplatten punktförmig aufgetragen und zweidimensional chromatographiert.

Das 1. Laufmittel bestand aus:

- 20 ml Benzol
- 45 ml Propionsäure
- 15 ml Wasser.

Als 2. Laufmittel diente 5 %-ige Ameisensäure.

Die Mischung des 1. Laufmittels wurde wegen der Giftigkeit des Benzols beim 2. und 3. Versuch abgeändert in:

- 40 ml Butanol
- 10 ml Essigsäure
- 50 ml Wasser.

Von diesem Laufmittel wurde nur die untere Phase verwendet.

Nachdem die Platten getrocknet waren, wurden im UV-Licht die Flecken markiert. Durch Besprühen der Platten mit in Methanol gelöstem Diphenylborsäureaminoäthylester-Komplex (NEU, 1956) und anschließendem Begasen mit Ammoniak ließen sich zahlreiche phenolische Substanzen nachweisen.

Eine Behandlung mit in angesäuertem Methanol gelöstem p-Dimethylaminozimtaldehyd (STAHL, 1967) machte verschiedene andere Flecken im Tageslicht sichtbar.

Von der Fleckenverteilung auf den Chromatogrammen wurden Zeichnungen angefertigt.

2.2.1. Probenahmen

2.2.1.1. Im Februar

Es wurden 11 g des letztjährigen Triebzuwachses von *P. avium* und *P. pseudocerasus* ohne Knospen extrahiert. Davon wurden jeweils 15 µl chromatographiert.

4,1 g *Pseudocerasus*- und 3,6 g *Avium*-Kallus, der 5 Wochen auf 10 ppm IBS und 0,1 ppm BA kultiviert worden war, wurden in der gleichen Weise untersucht.

2.2.1.2. Im Juni

Die Rinde des letztjährigen Triebzuwachses beider Kirscharten wurde gefriergetrocknet. Davon wurden je 50 mg 3 mal in Methanol extrahiert und eingedampft.

Nach folgender Methode wurde die in dem Extrakt enthaltenen Phenole ausgeschüttelt:

Extrakt + 3 ml Methanol + 6 ml Wasser + eine Spatelspitze NaCl wurden in einem Scheidetrichter zusammen mit der entsprechenden Menge Äthylacetat geschüttelt.

Die meisten Phenole gehen aus der unteren, der wässrigen Phase, in das Äthylacetat über. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Äthylacetat ausgeschüttelt. Das Äthylacetat wurde abgedampft und der Phenolextrakt wieder mit 0,5 ml Methanol aufgefüllt.

Von diesem Extrakt wurden 20 µl punktförmig auf eine mit Zellulose beschichtete Glasplatte aufgetragen und zweidimensional chromatographiert. Der Rest wurde als Basislinie auf 2 Platten aufgetragen und im 1. Laufmittel chromatographiert. Im UV-Licht waren die verschiedenen Stoffe als Streifen sichtbar. Diese Streifen wurden getrennt eluiert, eingedampft und auf 0,25 ml Methanol aufgefüllt. Diese 0,25 ml Extrakt wurden wiederum als Basislinie auf eine Platte aufgetragen und dies-

mal im 2. Laufmittel chromatographiert.

Im UV-Licht konnte eine weitere Trennung der Stoffe beobachtet werden. Die ausgeschabten Zonen wurden eluiert, eingedampft und auf 2 ml Methanol aufgefüllt. Ein registrierendes Spektralphotometer zeichnete im Wellenlängenbereich von 200 - 400 nm die Absorptionskurve der betreffenden Stoffe auf. Anschließend wurde der Extrakt mit 2 Tropfen NaOH oder AlCl_3 versetzt und nochmals gemessen.

Mit dem Kallus der beiden Kirscharten wurde in gleicher Weise verfahren. Es wurde nur von vornherein mehr Kallus extrahiert, nämlich 271 mg gefriergetrocknetes Material.

2.2.1.3. Im Oktober

Aus 18,3 g frischem Avium-Kallus und 36,7 g Pseudocerasus-Kallus wurden 0,95 ml bzw. 0,8 ml Methanolextrakt hergestellt, wovon je 15 μ l punktförmig chromatographiert wurden. Die Fleckenverteilung wurde aufgezeichnet. Aus je weiteren 9 Platten wurden bestimmte Flecken eluiert und spektralphotometrisch untersucht.

2.2.2. Qualitative Bestimmung der Flecken

2.2.2.1. Erkennen eines Stoffes durch Testsubstanzen

Es wurden synthetische, phenolische Teststoffe allein chromatographiert. Anhand des R_f -Wertes und der Farbe des Testfleckens kann die Identität mit dem Fleck auf dem Chromatogramm annähernd ermittelt werden. Die Sicherheit einer Aussage erhöht sich, wenn die Testsubstanz zusammen mit dem Extrakt chromatographiert wird.

Deckt sich der Test-Fleck mit dem Fleck auf dem Chromatogramm und sind beide gleich getönt, so kann mit einiger Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß es sich um den gleichen Stoff handelt.

2.2.2.2. Erstellen der Absorptionskurve mit dem Spektralphotometer

Um eine vergleichbare Menge des zu untersuchenden Materials zu haben, mußten mehrere Platten hergestellt werden. Ihre Zahl richtete sich nach der Größe des zu bestimmenden Fleckes. Dieser wurde auf jeder Platte ausgeschabt und 2 mal mit Methanol eluiert. Die zentrifugierte Lösung wurde abgeschüttet und eingedampft und anschließend auf 2,7 ml mit Methanol in der Meßküvette aufgefüllt. Als Kontrolle diente 2,7 ml reines Methanol.

Mit dem Spektralphotometer unter Verwendung der Wasserstofflampe konnte die Absorption in dem Wellenlängenbereich 200 - 400 nm gemessen werden. Durch Zugabe von NaOH oder $AlCl_3$ erfährt die Kurve eine charakteristische Verschiebung, die zur Identifizierung der Substanz herangezogen werden kann (MABRY, MARKHAM und THOMAS, 1970).

2.2.3. Quantitative Bestimmung

2.2.3.1. Gesamtphenolbestimmung (PASCAL, RIBEREAU-GAYON, 1968)

1,35 g *P. avium- und 1,3 g P. pseudocerasus-Triebe wurden in Methanol 24 Stunden lang extrahiert. Das Methanol wurde wieder abgedampft und der Extrakt auf 5 ml Methanol aufgefüllt. Davon wurden 1 ml für die Gesamtphenolbestimmung entnommen und wieder eingedampft, da sich kein Alkohol mehr in dem Extrakt befinden darf. Mit 5 ml Wasser wurde wieder aufgefüllt. Dieser Lösung wurden wiederum 0,1 ml entnommen und mit Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Davon wurden 2 ml mit 0,5 ml Folinreagenz und 3 Minuten später mit 1 ml Na_2CO_3 versetzt. Anschließend wurde wieder auf 10 ml Wasser aufgefüllt und 30 Minuten gewartet. Inzwischen wurde auch eine Kontrolllösung, bestehend aus 0,5 ml Folinreagenz und 1 ml Natriumkarbonat und 8,5 ml Wasser hergestellt. Die beiden Proben färbten sich blau und es bildete sich ein weißer Niederschlag. Nach Ablauf der 30 Minuten wurden 3 ml der Probe als auch 3 ml der Kontrolle getrennt filtriert

und bei der Wellenlänge 730 nm Wolframlampe mit dem Spektralphotometer gemessen.

Anhand der Extinktion konnte mittels der Eichkurve der Gesamtphenoigehalt bestimmt werden.

2.2.3.2. Catechinbestimmung (FEUCHT und KHAN, 1973)

Avium- und Pseudocerasus-Rinde wurden in Methanol extrahiert. Dieser Extrakt wurde zweidimensionalchromatographiert. Catechin und Epicatechin sind im UV-Licht als dunkle Flecken zu erkennen. Sie wurden getrennt eluiert, abgedampft und mit Methanol auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt.

Als Nachweisreagenz diente: 0,2 g Dimethylaminozimtaldehyd

10 ml Methanol

10 ml HCl (32%ig 1:1 verdünnt)

Dieser Lösung wurde 1 ml entnommen und mit 4 ml Methanol versetzt. Für den Nachweis benötigt man 0,5 ml dieser Lösung + 2,5 ml Extrakt und eine Kontrollösung bestehend aus : 0,5 ml Reagenz und 2,5 ml Methanol. Nach 25 Minuten nehmen beide eine Blaufärbung an und mit dem Spektralphotometer kann bei der Wellenlänge 635 nm die Absorption gemessen werden. Anhand der Extinktion konnte in der Eichkurve das Gewicht des endogen in der Probe enthaltenen Catechins und Epicatechins abgelesen werden.

2.3. Ergebnisse

Eine der Schwierigkeiten, die Phenolgehalte der beiden Kirscharten zu beschreiben, liegt darin, daß die Chromatogramme eines Extraktes verschieden ausfallen können, wenn zwischen der Herstellung des Extraktes und der Chromatographie eine gewisse Zeitspanne liegt. Obwohl die Extraktproben tiefgeköhlt gelagert wurden, können dennoch währenddessen kleine stoffliche Veränderungen abgelaufen sein.

Die mehrfache Benutzung der Laufmittel rief ebenfalls Phenolmusterveränderungen hervor, dergestalt, daß der eine oder andere Fleck nicht mehr sichtbar zu machen war.

Deshalb wurden nur die Flecken, die entweder durch ihr ständiges Auftreten oder durch eine besonders auffällige Reaktion sicher erkannt werden konnten, untersucht. In den Abbildungen 2-11 sind sie als Großbuchstaben bzw. als Zahlen gekennzeichnet. Alle weiteren Flecken, die nicht regelmäßig faßbar waren, wurden mit Abkürzungen, die ihr Verhalten im UV-Licht beschreiben, versehen.

In den Abbildungen 12-24 sind die Phenolmuster von Avium- und Pseudocerasus-Trieben, -Kallus und -Wurzeln dargestellt. In der Tabelle 15 sind die Reaktionen der einzelnen Flecken auf die Farbreagenzien aufgezeichnet.

Wie aus den Zeichnungen hervorgeht, entsteht zumindest bei den Trieben von *P. avium* der Eindruck einer größeren Phenolansammlung. Die Zahl der Flecken ist bis auf den Februar-Kallus bei *P. avium* größer. Über den Gesamtphenolgehalt der Triebe im Oktober gibt die einschlägige Bestimmung konkret Auskunft:

In *P. avium* sind 66,2 mg Phenole in einem Gramm Rinde enthalten, das entspricht 6,6 %.

In *P. pseudocerasus* ließen sich dagegen nur 17,5 mg also 1,7 % nachweisen.

2.3.1. Unterschiede im Phenolmuster beider Kirscharten

Bei *P. pseudocerasus* konnten zu keinem Termin, gleich ob in Trieben oder Kallus, Flecken entdeckt werden, die nicht auch

in *P. avium* enthalten sind. Auf den Chromatogrammen letzterer jedoch erscheinen stets vier charakteristische Flecken, die nicht in *P. pseudocerasus* vorkommen. Hierbei handelt es sich um:

1. den Fleck A, der im UV-Licht leuchtend weiß ist und nach dem Besprühen mit Naturstoffreagenz etwas abdunkelt. Er ist in Trieben wie in Kallus enthalten. Im Kallus war er jedoch nur im Oktober zu sehen. Die Vermutung liegt nahe, daß es sich hierbei nicht um eine altersbedingte Veränderung im endogenen Stoffgehalt des Kallus handelt, sondern daß das Ausgangsgewicht des Extraktionsmaterials der Proben im Februar und Juni zu niedrig war und der Fleck deshalb nicht in Erscheinung trat.

Die Absorptionskurve ist in Abb. 2 festgehalten. Sie hat einen ausgeprägten peak bei 290 nm und einen schwächeren bei 250 nm. Durch AlCl_3 tritt eine Verschiebung ein, sodaß die peaks nunmehr bei 310 und 260 nm liegen.

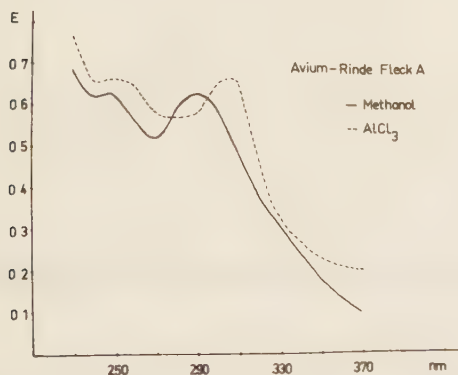


Abb. 2:

Spektrophotometrisch ermittelte Absorptionskurven des Fleckes A auf dem Dünnschichtchromatogramm.

2. den Fleck B, der im UV-Licht hell ist und nach einer Behandlung mit Naturstoffreagenz und Ammoniak immer leuchtender gelb wird. Hier machte sich ein Unterschied zwischen den beiden Laufmitteln Benzol und Butanol bemerkbar. Bei dem ersten Laufmittel lag er über dem Fleck A und bei dem zweiten darunter. Der Verlauf seiner Absorptionskurve ist in Abb. 3 zu verfolgen. Sie hat ebenfalls 2 peaks, einen bei 260 nm und den anderen bei 306 nm.

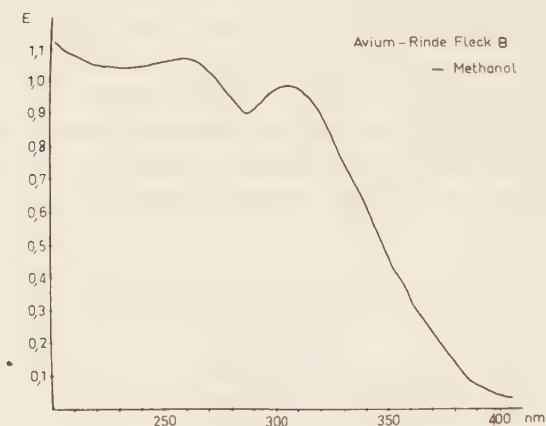


Abb. 3

Absorptionskurve des Fleckes B auf dem Dünnschichtchromatogramm

3. den Fleck C, der im UV-Licht schwach dunkel ist, nach dem Besprühen mit Naturstoffreagenz rot und nach dem Begasen mit Ammoniak schwarz wird. Nach dieser Behandlung ist er im Tageslicht gelb zu sehen. Diese Substanz war in Trieben zu allen drei Entnahmeterminen vorhanden. Im Oktobererkallus muß eine Veränderung mit ihr vorgegangen sein. Zu diesem Zeit-

punkt wechselte die Farbe des Fleckes nach der Begasung mit Ammoniak nicht nach schwarz, sondern sie blieb rot. Im Tageslicht war er aber unverändert gelb sichtbar. Die Absorptionskurve in Abb. 4 zeigt einen deutlichen peak bei 285 nm und einen schwächeren bei 343 nm. Die Zugabe von Natronlauge bewirkte keine Verschiebung der Kurve. Der peak bei 285 nm wurde lediglich etwas abgeschwächt. Dagegen trat eine markante Veränderung durch Zugabe von AlCl_3 ein. Die Kurve war nunmehr eingipflig und hatte ihr Maximum bei 309 nm. Die Absorptionskurve dieses Fleckes im Oktober-Kallus hatte ihren peak - wie auch die des Juni-Kallus - bei 285 nm. Der zweite ist nur noch als schwache Schulter zu erkennen. Es besteht die Möglichkeit, daß es sich bei beiden Flecken um sehr ähnliche Substanzen handelt.

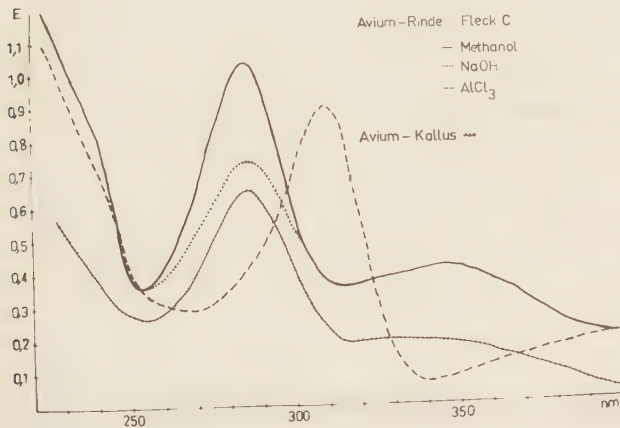


Abb. 4
Spektralphotometrisch ermittelte Absorptionskurve des Fleckes C auf dem Dünnschichtchromatogramm

4. den Fleck D, der nur im Oktober im Avium-Kallus zu finden war. Er ist im UV-Licht schwach rötlich, bekommt aber

mit Naturstoffreagenz und Ammoniak eine intensiv gelbe Farbe. Dieser Fleck hat aufgrund seiner Farbreaktion und Lage Ähnlichkeit mit Quercetin. Diese Vermutung konnte durch die Messung der Absorptionskurve (Abb.5) nicht bestätigt werden. Ihre peaks liegen bei 287 nm und 320 nm. Quercetin dagegen hat die Maxima bei 250 nm und 370 nm.

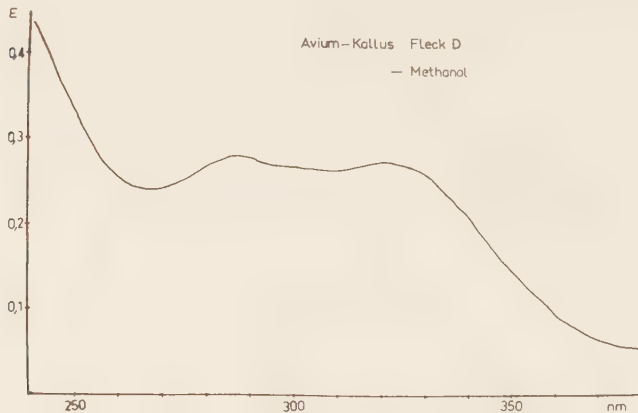


Abb. 5

Absorptionskurve des Fleckes D auf dem Dünnschichtchromatogramm

2.3.2. Gemeinsamkeiten im Phenolmuster beider Kirscharten

Im folgenden wurden die Flecken, die auf den Chromatogrammen beider Kirscharten vertreten sind, aufgezeigt:

1. Bei den Flecken 1 und 2 handelt es sich nach FEUCHT und FORCHE (mündlich) offensichtlich um Chlorogensäuren. Sie sind im UV-Licht hell und verändern ihr Aussehen durch den Einfluß von Naturstoffreagenz und Ammoniak zu einem intensiven gelbgrünen Farbton. Diese Stoffe waren in Winter- und Sommertrieben vorhanden, im Kallus konnten sie im Februar

und im Juni ebenfalls nachgewiesen werden. Dagegen fehlten sie im Oktober-Kallus bei beiden Kirscharten.

Fleck Nr. 3 hatte die gleiche Farbreaktion wie die oben beschriebenen. Er unterschied sich lediglich durch seinen Rf-Wert. Er liegt auf gleicher Höhe wie die anderen, aber über dem Startpunkt. Augenscheinlich gehört er zu den Iso-Chlorogensäuren (OLDEN und NYBOM, 1968), wie der Verlauf seiner Absorptionskurve in Abb. 6 zeigt. Die peaks liegen bei der für Chlorogensäure charakteristischen Wellenlänge von 330 nm und 250 nm. Bei 288 nm ist eine deutliche Schulter ausgeprägt.

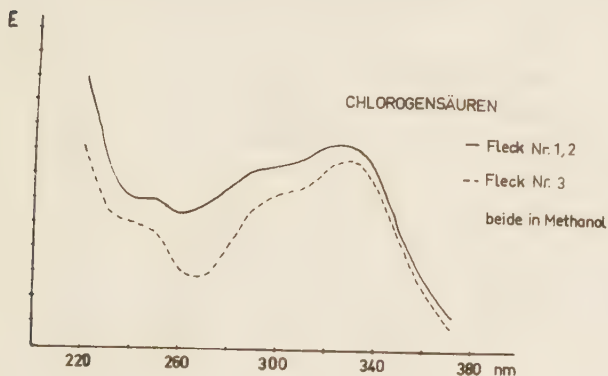


Abb. 6

Absorptionskurve der Flecken 1, 2 und 3 auf dem Dünnschichtchromatogramm

2. In der Mitte der zweidimensionalen Chromatogramme befinden sich nebeneinander in einer Reihe Flecken, die auf Naturstoffreagenz und Ammoniak mit einer orange Färbung reagieren. Derartige Flecken sind auch über dem Startpunkt zu finden. Sie sind allerdings schwer zu erfassen, da sie nicht konstant auftreten.

Fleck Nr. 4 hingegen macht eine Ausnahme. Er ist auf fast jedem Chromatogramm, wie aus den verschiedenen Abbildungen zu erkennen ist, zu finden, und zwar scheint der Stoff in größerem Maße in *P. pseudocerasus* als in *P. avium* angereichert zu sein.

Er unterscheidet sich von den anderen orangefarbenen Flecken dadurch, daß er im Tageslicht nach den Behandlungen mit den Reagenzien gelb wird.

Test-Rutin, das zusammen mit dem Extrakt chromatographiert wurde, verhielt sich genauso wie Fleck Nr. 4. Den Beweis, daß es sich tatsächlich um Rutin handelt, erbrachten die Absorptionskurven des endogenen und des exogenen Rutins, deren peaks beidemale bei 280 nm und 360 nm lagen, wie die Abb. 7 zeigt.

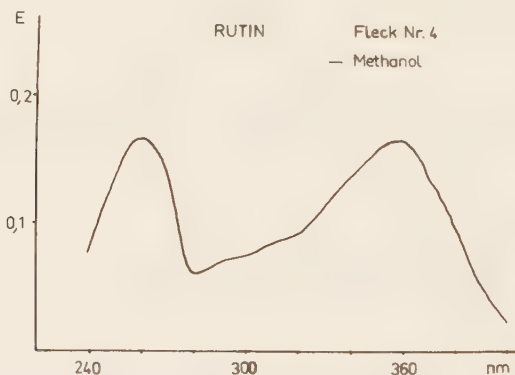


Abb. 7

Absorptionskurve des Fleckes Nr. 4 auf dem Dünnschichtchromatogramm

Es ist nicht gelungen, eine quantitative Messung des Rutins durchzuführen. Schon die Erstellung der Absorptionskurve bereitete große Schwierigkeiten, denn die Messung erforderte sehr viel Material.

3. Rechts neben dem Rutin kommt gelegentlich ein weiterer Fleck Nr. 5 mit ähnlichem Verhalten im UV-Licht zum Vorschein. Allerdings bleibt er im Tageslicht unsichtbar.

4. Über den beiden Chlorogensäuren 1 und 2 hat der Fleck Nr. 6 seinen Platz. Im UV-Licht ist er schwach dunkel zu erkennen, durch Naturstoffreagenz nimmt er eine schwach blaue Färbung an und Ammoniakgase bewirken eine leuchtend himmelblaue Tönung, die sich aber als instabil ausweist und nur durch neuerliches Behandeln mit Ammoniak wieder sichtbar wird. Diese speziellen Reaktionen und der peak der Absorptionskurve (Abb. 8) zwischen 290 nm und 310 nm deuten stark auf ein Cumarsäurederivat hin.

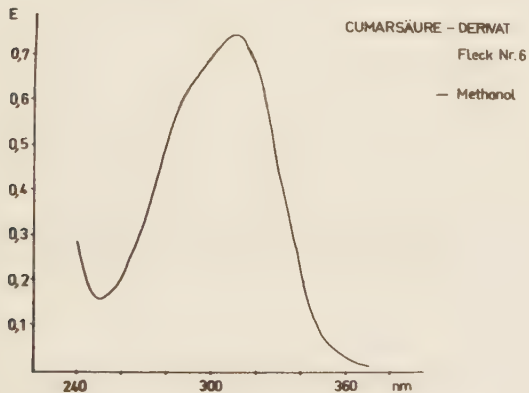


Abb. 8

Absorptionskurve des Fleckes Nr. 6 auf dem Dünnschichtchromatogramm. (Avium-Rinde)

5. Unterhalb der Chlorogensäuren konnte hin und wieder der Fleck Nr. 7 beobachtet werden, dessen Reaktionen auf die verschiedenen Reagenzien ähnlich der des Fleckes Nr. 5 war. Seine Kurve kann in Abb. 9 abgelesen werden. Sie ist

zweigipflig und die Maxima liegen bei 283 nm und 370 nm. Die Zugabe von AlCl_3 verursachte eine Verschiebung nach 309 nm und 328 nm.

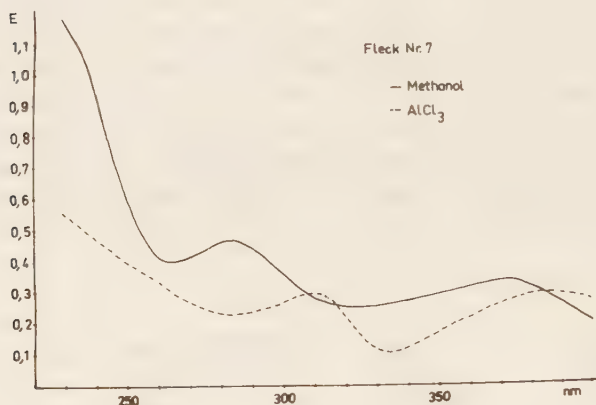


Abb. 9

Absorptionskurven des Fleckes Nr. 7 auf dem Dünnschichtchromatogramm (Avium-Rinde)

Es wurde versucht, diesen Fleck über eine Polyamidsäule zu trennen. Die Kurve zeigte nun einen ganz anderen Verlauf, wie aus Abb. 10 hervorgeht. Die beiden Maxima liegen bei 260 nm und 354 nm. Da bei der Trennung durch die Polyamidsäule größere Mengen Material benötigt werden, könnte dadurch eine weitere Substanz erkennbar geworden sein, deren Absorptionskurve den Verlauf hat, wie er in Abb. 10 dargestellt ist.

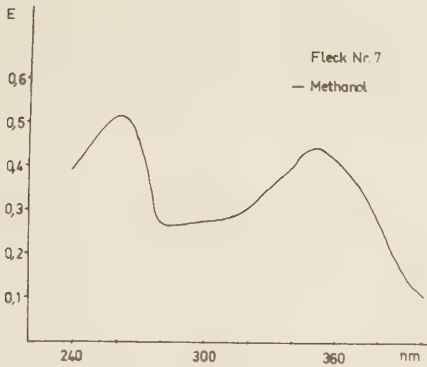


Abb. 10:
Absorptionskurve des Fleckes Nr. 7 auf der Polyamidsäule
(Avium-Rinde)

6. Fleck Nr. 8, gewöhnlich mitten im Chromatogramm gelegen, wird nach der Behandlung mit Naturstoffreagerz und Ammoniak sowohl im UV-Licht als auch im Tageslicht kräftig rot sichtbar, was eventuell auf ein Chalken hindeutet. Bis auf eine Ausnahme (Juni-Kallus) trat er nur bei *P. avium* auf. Es scheint, daß er in Kallus in stärkerem Maße vertreten ist als in Trieben. Sein Erscheinen war allerdings nicht regelmäßig, im Oktober-Kallus konnte er bei beiden Kirscharten nicht nachgewiesen werden. Seine Absorptionskurve konnte nicht mit Sicherheit bestimmt werden, da er stets von dem Fleck Nr. 10 überlagert wurde. Auch die Reinigung des Extraktes bot keine Möglichkeit, diese beiden Flecken zu trennen. Es könnte sein, daß die Absorptionskurve den gleichen Verlauf wie die des Catechins hat, da die Messung einen gleichmäßigen Kurvenverlauf erbrachte, der das Vorhandensein einer Substanz mit einem anderen peak eigentlich ausschließen müßte.

7. Fleck Nr. 9 ist nur in den Trieben beider Kirscharten vorhanden. Er war gleich nach der Chromatographie violett im Tageslicht zu sehen. Im UV-Licht war dunkel, und er konnte nicht durch irgendein Reagenz verändert werden. Es kann als sicher angesehen werden, daß dieser Fleck Anthocyan darstellt.

Mit Zimtaldehyd konnten weitere Stoffe nachgewiesen werden, die je nach endogenem Gehalt im UV-Licht dunkel zu sehen waren. Nach dem Besprühen mit diesem Reagenz kamen sie deutlich im Tageslicht zum Vorschein.

1. Die Flecken Nr. 10 und 11 sind im Kallus und in den Trieben beider Kirscharten sowie den Wurzeln von *P. avium* vertreten. Durch Zimtaldehyd erhalten sie im Tageslicht eine kräftig blaue Farbe. Die Absorptionskurve (Abb. 11) beider Stoffe ist gleich. Der peak liegt bei 280 nm. Nach FEUCHT und KHAN (1973) kann mit großer Bestimmtheit geschlossen werden, daß es sich bei dem oberen Fleck (Nr. 10) um Catechin und bei den unteren (Nr. 11) um Epicatechin handelt.

Auffällig ist, daß man an Hand der Größe dieser Flecken auf die Kirschart rückschließen kann. Während die beiden Flecken bei *P. pseudocerasus* gleich groß sind, ist der des oberen Catechins bei *P. avium* bedeutend größer. Die quantitative Bestimmung konnte die Vermutung bestätigen:

In 1 g *P. avium* Rinde sind 1,48 mg (0,15 %) Catechin und 0,12 mg (0,012 %) Epicatechin enthalten.

In 1 g *P. pseudocerasus* Rinde lassen sich dagegen 1,75 mg (0,18 %) Catechin und 1,09 mg (0,11 %) Epicatechin nachweisen.

Avium-Triebe und *Avium*-Wurzeln lassen sich durch einen veränderten Catechin- bzw. Epicatechingehalt charakterisieren. Enthalten die Triebe mehr Catechin, so findet sich in den Wurzeln mehr Epicatechin (Abb. 22).

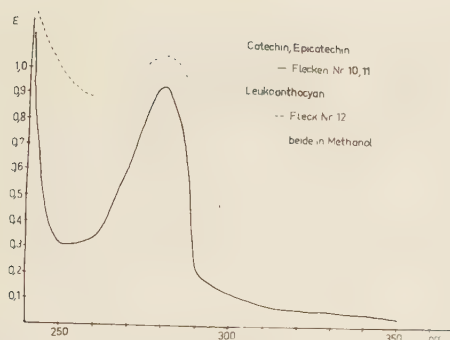


Abb. 11

Absorptionskurven der Flecken Nr. 10 und 11 auf dem Dünnschichtchromatogramm (Avium-Rinde)

2. Fleck Nr. 12 wird durch Besprühen mit Zimtaldehyd grau-blau. Auf But/HCl reagiert er mit Rotfärbung (SWAIN und HILLIS, 1959). Er ist wie bei Catechin auf jedem Chromatogramm zu finden. Seine Kurve hat ihr Maximum ebenfalls bei 280 nm. Anhand seines Rf-Wertes und seiner Farbreaktion muß es sich um Leukoanthocyan (Flavan-3,4-diole) handeln. Der Kallus beider Kirscharten, wie er im Oktober untersucht wurde, wies eine Anreicherung weiterer Catechine und Leukoanthocyane auf. Sie sind getrennt von den anderen Phenolen in den Abb. 20 u. 21 aufgezeichnet. Die zwei streifenförmigen Flecken verhalten sich wie Leukoanthocyan, nur ist ihre Lage etwas höher.

P. avium weist zudem noch 2 weitere Flecken auf, die sich am oberen Plattenrand befinden und die gleiche Reaktion wie die Catechine haben. In *P. pseudocerasus* finden sich noch vier andere catechinähnliche Flecken.

Diese zusätzlichen Flecken konnten allerdings nur unmittelbar nach dem Extrahieren festgestellt werden. Die Chromatographie des gleichen Extraktes 3 Tage später zeigte wieder das gewohnte Bild des Catechins, des Epicatechins,

sowie des Leukoanthocyans (oligomeres Flavan-3,4-diol).

3. Eine weitere Veränderung, die mit dem Kallus im Oktober vor sich gegangen ist, läßt sich an Fleck Nr. 13 erkennen, der bislang noch nie aufgetreten war. In beiden Kirscharten ist er leuchtend hell, was durch Naturstoffreagenz noch intensiviert wird. Besprühen mit Zimtaldehyd läßt ihn im Tageslicht rot erscheinen. Die Absorptionskurve weist bei 280 nm einen peak auf.

4. Die Flecken Nr. 14 und 15 können durch Zimtaldehyd sichtbar gemacht werden, indem sie eine violette Färbung annehmen. Sie sind manchmal vorhanden oder auch nicht. Oft ist auch nur einer zu sehen. Bei ihnen könnte es sich um Tryptophan handeln, da Farbreaktion und Rf-Wert mit dieser Substanz identisch sind.

Der Versuch, den Extrakt durch Ausschütteln mit Äthylacetat zu reinigen, brachte keinen Vorteil für die Identifizierung der Substanzen. Die Fleckenzahl wurde durch diese Behandlung nicht verringert und zudem ließen sich die einzelnen Stoffe trotz zweimaligem Laufen in beiden Laufmitteln oft nur sehr schlecht trennen.

Tabelle 15:

Reaktionen der Flecken auf verschiedene Behandlungsmethoden

Nr.	Tageslicht	UV-Licht	Naturstoffreagenz	Naturstoffreagenz UV-Licht	Tageslicht	Zimt-aldehyd	1. Max.	2. Max.	Schulter	identifiziert als
A	-	leuchtend weiss	Abschwächung	chung	-	-	-	250 nm	290 nm	
B	-	hell	leuchtend gelb	gelb	-	-	-	260	306	
C	-	schwach dunkel	rot	rot	schwarz	gelb	-	285	343	
D	-	schwach rötlich	gelb	gelb	intensiv gelb	-	-	287	320	
1	-	hell	gelbgrün	gelbgrün	intensiv gelbgrün	gelb	-	250	330	288 Chlorogensäure
2	-	hell	gelbgrün	gelbgrün	intensiv gelbgrün	gelb	-	250	330	288 Chlorogensäure
3	-	hell	gelbgrün	gelbgrün	intensiv gelbgrün	-	-	250	330	288 Chlorogensäure
4	-	schwach dunkel	orange	orange	intensiv orange	gelb	-	280	360	Rutin
5	-	-	orange	orange	intensiv orange	-	-	-	-	
6	-	schwach dunkel	schwach blau	blau	intensiv instabil. bil	-	-	290-310	-	Cumarsäure
7	-	-	orange	orange	intensiv orange	-	-	283/260	370/354	
8	-	-	rot	rot	rot	-	-	280	-	
9	violett	dunkel	dunkel	dunkel	dunkel	violett	-	-	-	Anthocyan
10	-	schwach dunkel	schwach dunkel	dunkel	schwach dunkel	-	blau	280	-	Catechin
11	-	schwach dunkel	schwach dunkel	dunkel	schwach dunkel	-	blau	280	-	Epicatech.
12	-	-	-	-	-	-	grau/blau	280	-	Leukoanth.
13	-	leuchtend hell	intensiv orange	orange	Intensiv vierung	-	rot	280	-	
14	-	schwach dunkel	schwach dunkel	dunkel	schwach dunkel	-	violett	-	-	Tryptophan

Pr. avium

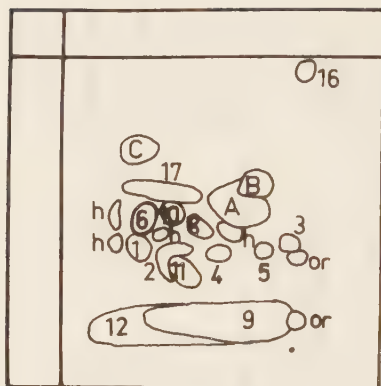


Abb. 12:

Dünnschichtchromatogramm
der Avium-Triebe vom
Februar
h = hell, or = orange

Pr. pseudocerasus

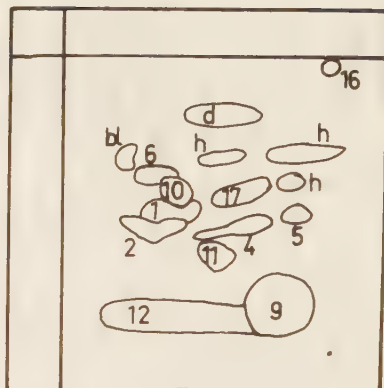


Abb. 13:

Dünnschichtchromatogramm
der Pseudocerasus-Triebe
vom Februar
h = hell, bl = blau
d = dunkel

Pr. avium

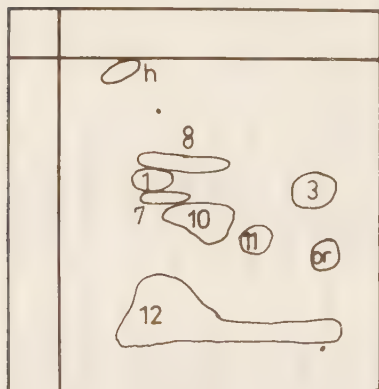


Abb. 14:

Dünnschichtchromatogramm
des Avium-Kallus vom
Februar
h = hell, or = orange

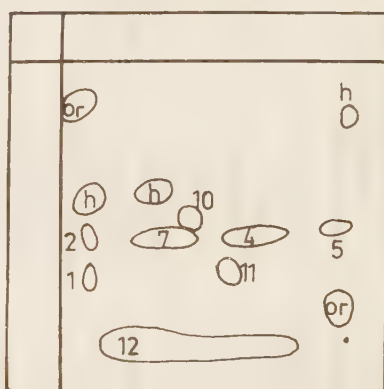


Abb. 15:

Dünnschichtchromatogramm
des Pseudocerasus-Kallus
vom Februar
h = hell, or = orange

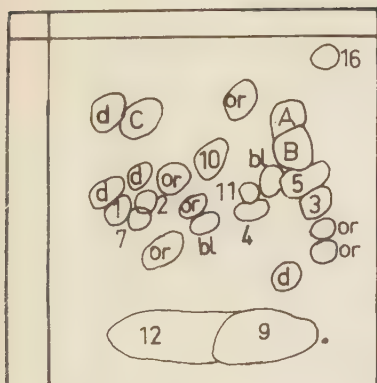


Abb. 16:
Dünnschichtchromatogramm
der Avium-Triebe vom Juni
d = dunkel, bl = blau
or = orange

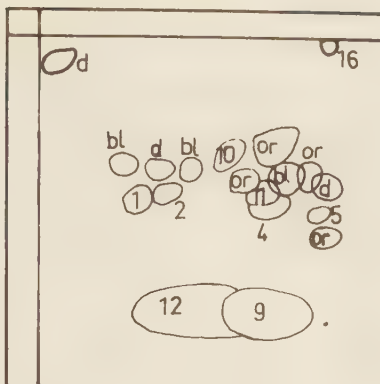


Abb. 17:
Dünnschichtchromatogramm der
Pseudocerasus-Triebe vom Juni
d = dunkel, bl = blau
or = orange

Pr. avium

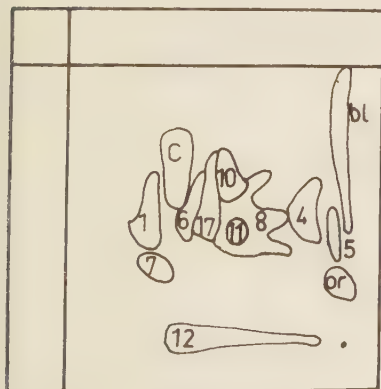


Abb. 18:
Dünnschichtchromatogramm
des Avium-Kallus vom Juni
bl = blau, or = orange

Pr. pseudocerasus

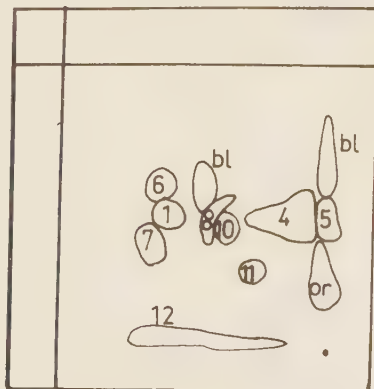


Abb. 19:
Dünnschichtchromatogramm des
Pseudocerasus-Kallus vom Juni
bl = blau, or = orange

Pr. avium

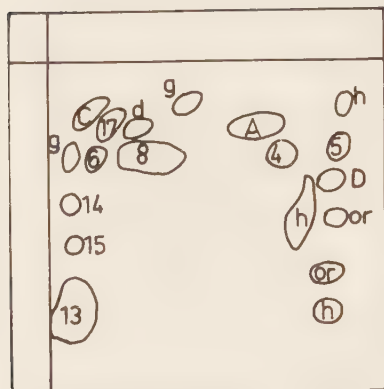


Abb. 20:
Dünnschichtchromatogramm des
Avium-Kallus vom Oktober ohne
Catechin und Leukoanthocyan
(Flavan-3,4-diol, vgl. Abb. 22)
d = dunkel, or = orange
g = gelb, h = hell

Pr. pseudocerasus

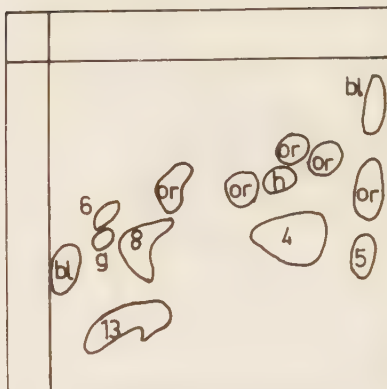


Abb. 21:
Dünnschichtchromatogramm des
Pseudocerasus-Kallus vom Okto-
ber ohne Catechin und Leuko-
anthocyan (Flavan-3,4-diol,
vgl. Abb. 23)
d = hell, bl = blau
or = orange, g = gelb

Pr. avium

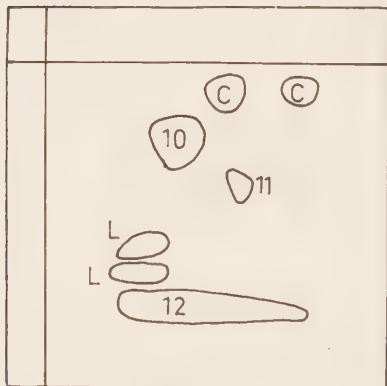


Abb. 22:
Zusätzliche Catechine (C)
und Leukoanthocyane (L)
(Flavan-3,4-diol) im Avium-
Kallus vom Oktober

Pr. pseudocerasus

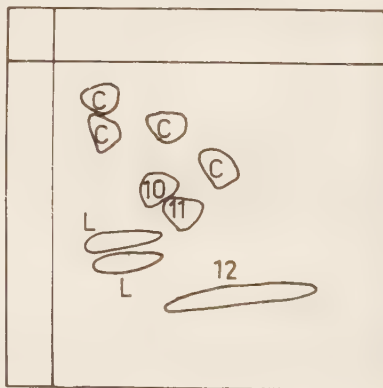


Abb. 23
Zusätzliche Catechine (C)
und Leukoanthocyane (L)
(Flavan-3,4-diol) im Pseu-
docerasus-Kallus im
Oktober

Pr. avium

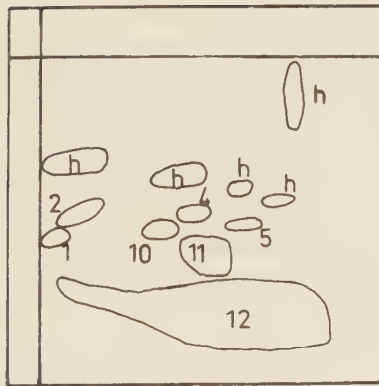


Abb. 24:
Dünnschichtchromatogramm der
Avium-Wurzeln vom Februar
h = hell

2.4. Diskussion

Durch die Dünnschichtchromatographie konnten einige Phenole sichtbar gemacht werden. Aufgrund der spektralphotometrischen Beobachtungen ist nur eine grobe Zuordnung dieser Stoffe zu größeren Stoffgruppen möglich: Flavane sind eingipflig mit einem peak bei 300 nm. Flavone und Flavonole sind dagegen stets zweigipflig. Der eine peak liegt bei beiden im kurzwelligen UV-Bereich (240 - 280 nm). Der zweite peak unterscheidet die beiden Gruppen von einander. Flavone haben ihn im Bereich von 320 - 350 nm. Der zweite peak der Flavonole liegt zwischen 340 - 380 nm.

Die Phenolmuster der beiden Kirscharten *P. avium* und *P. pseudocerasus* unterscheiden sich durch einige markante Flecken, die nur auf den Chromatogrammen von *P. avium* erscheinen. Diese Tatsache könnte die Beobachtungen, die während des vorangegangenen Hormonversuchs gemacht wurden (S. 27) insofern unterstützen, daß der Stoffwechsel im Kallus und in den Trieben von *P. avium* anders ist als der von *P. pseudocerasus*. Hierdurch könnte das unterschiedliche Verhalten in der Bewurzelung mit bedingt sein.

Andererseits ist in *P. pseudocerasus* das Rutin, dem von LEE und TUCKEY (1971) wurzelbildende Fähigkeiten zugesprochen werden, offenbar stärker angereichert als in *P. avium*. Es besteht die Möglichkeit, daß Rutin unter anderem für die leichte Bewurzelbarkeit von *P. pseudocerasus* mit verantwortlich ist. Theoretisch wäre dann das endogene Rutin in *P. avium* als einer der für die Wurzelbildung verantwortlichen Faktoren nicht in ausreichender Menge vorhanden, und die Wurzel differenzierung fände dadurch ihre Grenzen. Aus diesem Grund wird dieser Substanz - in vitro zugegeben - besondere Aufmerksamkeit geschenkt (S. 75).

Der endogene Catechingehalt ist in beiden Kirscharten in etwa entsprechend. Dagegen ist das Vorkommen des Epicatechins in *P. pseudocerasus* größer als in *P. avium*. Zu beachten ist in diesem Zusammenhang die Anreicherung des Epicatechins in der ausgebildeten, intakten *Avium*-Wurzel (Abb. 24), was auch schon von FORREST und BENDALL (1969) an Teewurzeln beobachtet wurde.

Die Untersuchungen der Phenole zeigen weitere Schwierigkeiten zur Lösung des Bewurzelungsproblems auf, die sich aus der Vielschichtigkeit dieser Stoffgruppe erklärt. Vermutlich können einige dieser Stoffe die Wurzelbildung fördern, andere hemmen sie und wieder andere nehmen keinen Einfluß auf Differenzierungsvorgänge. VIEITEZ, SEOÁNE, GESTO, MATO, VAZQUEZ und CARNICER (1966) stellten eine Hemmung durch einen extrahierten Phenolester fest. An *Eranthemum tricolor* Stecklingen konnte gezeigt werden, daß die Applikation verschiedener Phenole ohne Wirkung blieb, wenn sie allein durchgeführt wurde. Gute Wurzelbildung stellte sich erst nach einer Behandlung mit einem Phenol und einem Auxin zusammen ein. Hier kam es jedoch auch wieder darauf an, welches Phenol mit welchem Auxin kombiniert wurde (BASU, BOSE, ROY und MUKHOPADHYAY, 1969).

Es ist ferner durchaus denkbar, daß die Wirkung eines Phenols zudem noch pflanzenspezifische Unterschiede aufweist.

Diese Überlegungen geben Anlaß, Untersuchungen, die mit Mungbohnen und ähnlich gut wurzelnden Pflanzen durchgeführt wurden, nicht als optimale Bewurzelungstests anzusehen. Die Aussage, daß dieser oder jener Stoff eine bestimmte Wirkung auf die Testpflanze ausübt, ist eindeutig. Es ist jedoch zweifelhaft, ob dieses Testergebnis auf andere Pflanzen übertragbar ist.

Immer wieder werden den Chlorogensäuren wurzelbildende Aktivitäten zugeschrieben (LEOPOLD und PLUMMER, 1961; HESS, 1969). Die Chromatogramme beider Kirscharten weisen aber keine Unterschiede in dieser Hinsicht auf, daß man diesen Gedanken im Hinblick auf *Plavium* weiter verfolgen müßte.

ROY, ROYCHOUDHURY, BOSE und BASU (1972) beobachteten eine Förderung der Mungbohnenbewurzelung durch freie wie gebundene Säurefraktionen der Extrakte leicht wurzelnder Pflanzen. In den schwer wurzelnden Exemplaren konnten keine derartigen fördernden Zonen nachgewiesen werden. Die rhizogenen, phenolischen Komponenten - frei als auch gebunden - wurden als Ferulasäure, p-Hydroxybenzoesäure und p-Cumarsäure erkannt. POAPST und DURKEE (1967) berichten ebenfalls von dem fördernden Effekt oxydierter p-Cumarsäure, Kaffesäure und Phloreszin. Bis auf ein

Cumarsäurederivat konnten in keiner der beiden Kirscharten die vorgenannten Stoffe nachgewiesen werden. Allerdings kann dieses Cumarsäurederivat, vom quantitativen Aspekt her betrachtet, in dem hier behandelten Fall keine wesentliche Rolle spielen, da in seinem Auftreten bei beiden Kirscharten keine deutlichen Differenzen zu Tage traten. Es bleibt allerdings offen, wieviel jeweils inaktiv in der Vakuole vorliegt und wieviel im Plasma vorhanden ist.

2.4.1. Unterschied im Phenolmuster zwischen Trieb und Kallus

Versuche in der Gewebekultur hatten gezeigt, daß Triebstücke von *P. avium* schlechter zu bewurzeln sind als die von *P. pseudocerasus*. Bei Kallus liegen die Verhältnisse dagegen umgekehrt. Möglicherweise sind auch hier Veränderungen im Phenolstoffwechsel für diese Wandlung teilweise verantwortlich. Unter diesem Aspekt könnte der Phenolkomplex wichtige Informationen enthalten.

Auffallend ist bei beiden Kirscharten, daß im Kallus viel weniger Phenole enthalten sind als in der entsprechenden Menge Triebmaterial.

Aus den Chromatogrammen des Oktober-Kallus, der in ausreichender Quantität vorhanden war, wird deutlich, daß sich das Phenolmuster, besonders des *Avium*-Kallus, in einigen Punkten von dem der Triebe unterscheidet.

Fleck Nr. 13 ist eine Besonderheit des Kallus beider Kirscharten im Oktober und konnte sonst nirgends entdeckt werden.

Bei Fleck Nr. 8 wird der Unterschied zwischen Trieb und Kallus am deutlichsten. In Kallus ist er fast immer präsent, dagegen findet er sich in den Trieben nur im Februar bei *P. avium*.

Verfolgt man die Hypothese, daß eine Phenolmusterveränderung die Ursache für die günstigeren Bewurzelungsbedingungen im *Avium*-Kallus ist, dann müßten die Flecken B und D genauer

untersucht werden, weil sie in solchem Material auftreten, das Wurzeln bildet.

Wie erklärt sich nun aber die verringerte Bewurzelungsaktivität des Pseudocerasus-Kallus? Man kann als sicher annehmen, daß nicht nur ein einziges Phenol bei der Organdifferenzierung mitwirkt, sondern, daß es komplexe Vorgänge sind, die diese Abläufe steuern. Vielleicht kann man davon ausgehen, daß in Pseudocerasus-Trieben die notwendigen Stoffe endogen enthalten sind (es müssen nicht dieselben sein, die in Avium-Kallus die Förderung bewirken) und im Kallus nicht in genügender Menge synthetisiert werden, wie aus den nur ganz schwachen Flecken im Chromatogramm zu sehen war.

2.4.2 Feststellung jahreszeitlich bedingter Unterschiede im Phenolmuster

In diesem Punkt konnten keine nennenswerten Unterschiede festgestellt werden. Die markanten Flecken waren im Februar wie im Juni vorhanden. Es hatte lediglich den Anschein, daß im Sommer einige Flecken dazu gekommen sind (vgl. Abb. 12, 13, 16, 17), die aber nicht auf jedem Chromatogramm in Erscheinung traten und die deshalb nicht weiter beobachtet werden konnten.

Aus diesen Beobachtungen resultiert, daß die Phenolmuster nicht sehr stark durch die verschiedenen Vegetationsperioden beeinflußt werden, sondern sie scheinen von der Genetik her für jede Art vorgegeben zu sein.

IV. Prüfung des Rutins in der Gewebekultur

1. Problemstellung

Die chromatographische Untersuchung hat ergeben, daß Rutin in *P. pseudocerasus* möglicherweise in größerer Menge endogen enthalten ist als in *P. avium*. Die Vermutung liegt nahe, daß zwischen dem wahrscheinlich höheren Rutingehalt in *P. pseudocerasus* und deren relativ guter Bewurzelungsfähigkeit in vitro Beziehungen bestehen.

TOMASZEWSKI und THIMANN (1966) berichten, daß Polyphenole, zu denen auch das Rutin gehört, durch ihre Hemmung der IES-Dekarboxylierung synergistisch auf IES-induziertes Wachstum reagieren.

Die direkte rhizogene Wirkung des Rutins wurde von LEE und TUCKEY (1971) an *Euonymus alatus* und von JANKIEWICZ, BOJARCZUK, PIATKOWSKI (1973) an Magnolienstecklingen in Form eines Tauchversuches nachgewiesen. Hierbei konnte das exogen zugeführte Rutin das Differenzierungsvermögen der IBS steigern, vorausgesetzt, daß zudem Auxin appliziert wurde.

Die folgende Versuchsanordnung soll Aufschluß über nachstehende Probleme geben:

1. Hat Rutin eine Wirkung auf Triebstücke von *P. avium* und *P. pseudocerasus*?
2. Wie ist die Kallusreaktion hinsichtlich der Wurzelbildung auf eine Rutinzugabe?
3. Welche Reaktion zeigt sich im Kalluswachstum bei Rutinapplikation?
4. Reagieren Kallus und Triebstücke auf unterschiedliche Rutinzugaben verschieden?
5. Welchen Einfluß hat Rutin auf Avenakoleoptilen in dem diesbezüglichen Test?
6. Beeinflußt Rutin den Chlorophyllabbau?

2. Methode

Die Prüfung des Rutins erfolgte in vier verschiedenen Versuchsanordnungen.

2.1. Wirkung des Rutins auf alten Kallus

Einjähriger Kallus von *P. avium* und *P. pseudocerasus* wurde am 2.11.72 auf bekanntem Nährmedium eingesetzt, dem 1 ppm NES und 0,01 ppm BA beigefügt waren. Dieser Kontrolllösung wurden 10, 20 und 30 ppm Rutin zugesetzt. Die Löslichkeit des Rutinpulvers erhöhte sich durch Ansäuern mit HCl. Der pH-Wert konnte unter Zugabe von NaOH auf 5,2 eingestellt werden. Jede Rutinkonzentration sowie die Kontrolle hatte acht Gläser. Nach elf Wochen wurde der Versuch beendet. Während dieser Zeit wurde die Wurzelentwicklung beobachtet. Die zahlenmäßige Auswertung der Wurzeln erfolgte zu drei verschiedenen Terminen. Am Ende des Versuchs wurden Wurzeln, helles und dunkles Gewebe getrennt und das Frischgewicht bestimmt.

Nach einem Jahr führte man eine Wiederholung dieses Versuchs durch, der aber nach der Wurzelanzählung endete.

2.2. Wirkung des Rutins auf frisch eingesetzte Triebe

Triebstücke der beiden Kirscharten wurden am 14.12.72 auf das gleiche Nährmedium wie oben gebracht. Die Rutinzugabe erweiterte man um die Stufen 40 und 50 ppm. Jede Konzentration hatte 15 Parallelen. Zwei und fünf Wochen nach dem Einsetzen konnten die Wurzeln gezählt und im Anschluß daran das Kallusgewicht und der Chlorophyllgehalt in den Triebstücken ermittelt werden.

Im darauf folgenden Sommer, am 11.7.73, wurden nochmals Triebstücke auf 1 ppm NES und 0,01 ppm BA und den Rutinkonzentrationen 10, 20 und 30 ppm kultiviert. Jede Konzentration hatte acht Wiederholungen. Nach der Wurzelanzählung vier Wochen später, wurde der frische Kallus gewogen und eine Chlorophyllmessung der Triebstücke durchgeführt.

Die Chlorophyllmessung wurde mit dem Spektralphotometer bei der Wellenlänge 647 nm und 664 nm durchgeführt (SCHOPFER, 1970). Die Differenz der beiden Werte zeigt die Absorption des Chlorophylls an.

2.2.1. Umsetzung des am Triebstück gebildeten Kallus auf frische Nährlösung gleicher Hormon- und Rutinstufe

Junger Kallus, der sich an den Triebsegmenten (eingesetzt im Dez. 72) gebildet hatte, wurde von diesem getrennt und am 17.1.73 auf frische Nährlösung mit der gleichen Hormonstufe wie vorher gesetzt. Nach fünf Wochen erfolgte die Zählung der Wurzeln. Auf eine Umsetzung der Triebstücke vom 11.7.73 wurde verzichtet.

2.3. Vorkultur der Triebstücke ohne Rutin auf 1 ppm NES / 1 ppm BA und 1 ppm NES / 0,1 ppm BA

Frische Triebstücke wurden am 4.1.73 in 15 Gläsern je Kirschart mit den oben vorgegebenen Hormonkonzentrationen zur Kallusbildung angeregt. Vier Wochen später ermittelte man die Wurzelzahl.

2.3.1. Umsetzung des Kallus nach 4 Wochen auf Rutin

Der neugebildete Kallus wurde auf frisches Nährmedium der Hormonkonzentration 1 ppm NES / 0,01 ppm BA umgesetzt. Dieser Versuch enthielt wieder Rutin in den Stufen 10, 20 und 30 ppm. Jede Stufe sowie die Kontrolle hatte acht Wiederholungen. Die Durchführung der Wurzelzählung war acht Wochen später.

2.4. Prüfung des Rutins mit Avenakoleoptilen

52 Haferkoleoptilen wurden in 5,8 mm lange Stücke geschnitten und sechs Gläser mit nachstehendem Inhalt vorbereitet:

1-4 wässrige IES-Lösung mit Zusätzen

1. Pseudocerasus-Segment
2. Pseudocerasus-Segment und Rutin
3. Avium-Segment
4. Avium-Segment und Rutin

5. wässrige IES-Lösung ohne Zusätze

6. Wasserkontrolle

Die Koleoptilen kamen zu gleichen Teilen in die Gläser und wurden für 19 Stunden dunkel gestellt. Eine anschließende Messung unter dem Stereomikroskop gab über die Streckung der Koleoptilen Auskunft.

3. Ergebnisse

3.1. Wirkung des Rutins auf alten Kallus

3.1.1. Wurzelwachstum

Zunächst sollte herausgefunden werden, ob Avium- und Pseudocerasus-Kallus überhaupt auf Rutin mit Wurzelentwicklung reagieren.

Elf Tage nach dem Einsetzen hatten sich am Avium-Kallus bei 10 und 30 ppm Rutin Wurzeln gebildet, wie man aus Tabelle 16 sehen kann.

Am zweiten Termin nach 25 Tagen konnten wieder Wurzel differenzierungen festgestellt werden. Diesmal zeigten sich auch in der Kontrolle Wurzeln, aber die mit Rutin behandelten Kallusse hatten noch einen deutlichen Vorsprung in der Wurzelzahl. Nach einer weiteren Woche war der Zuwachs an Wurzeln bei allen Konzentrationen und der Kontrolle ungefähr gleich.

Bei der letzten Durchsicht nach 49 Tagen hatte die Kontrolle ihren Rückstand aufgeholt und die anfänglich positive Wirkung des Rutins verwischt.

Etwas anders lagen die Verhältnisse bei P. pseudocerasus. Die ersten Wurzeln zeigten sich erst zum zweiten Zähltermin nach 25 Tagen, wie ebenfalls aus Tabelle 16 hervorgeht, wobei zwischen den Rutingaben und der Kontrolle kein wesentlicher Unterschied besteht. Auch zum vierten Termin nach 81 Tagen zeichnete er sich nicht deutlicher ab.

Vergleicht man P. avium mit P. pseudocerasus, so stellt man fest, daß die Wurzelbildung an Kallus unabhängig von Rutin an P. avium wieder besser (siehe Hormonversuch S. 41) als an P. pseudocerasus abläuft, denn dem Bewurzelungsergebnis von acht Gläsern mit 53 Wurzeln bei P. avium steht das von fünf Gläsern mit 23 Wurzeln bei P. pseudocerasus gegenüber.

Betrachtet man die Wirkung des Rutins auf P. avium, so scheint es zwar nicht die Wurzelbildung zu fördern, aber doch zu beschleunigen, denn nach vier Wochen hatten sich in den Gläsern mit Rutin bedeutend mehr Wurzeln entwickelt als in der Kontrolle. Die unterschiedlichen Rutingaben 10, 20 und 30 ppm spiegeln sich im Ergebnis nicht wieder. Innerhalb dieser Bandbreite scheint kein Wirkungsunterschied des Rutins zu bestehen.

Tabelle 16

Wurzelbildung an Kallus auf 1 ppm NES/0,01 ppm BA in Abhängigkeit von Rutin (Gläserzahl pro Serie 8), angesetzt: 2.11.72

	Zähltermin	Kontrolle	Rutin in ppm		
			10	20	30
P. avium	11 Tage	0	1 1	0	4 9
	25 Tage	2 7	5 10	3 4	5 17
	32 Tage	3 4	3 6	3 5	2 3
	81 Tage	7 42	6 21	5 13	8 27
	Summe	8 53	8 38	6 22	8 56

Fortsetzung Tabelle 16

	Zähltermin	Kontrolle	Rutin in ppm		
			10	20	30
P. pseudocerasus	11 Tage	0	0	0	0
	25 Tage	4 19	1 1	4 4	2 2
	32 Tage	0	0	0	0
	81 Tage	1 4	0	2 3	0
	Summe	5 23	1 1	5 7	2 2

Erklärung: Zu den einzelnen Zählterminen wurde nur der Zuwachs an Wurzeln notiert. Die Summe gibt das Bewurzelungsergebnis über den ganzen Zeitraum an.

3.1.2. Kalluswachstum

Aufschluß über den Einfluß auf das quantitative Kalluswachstum von P. avium und P. pseudocerasus sollte die Kalluswägung am Ende des Versuchs nach 12 Wochen geben. Die Werte sind aus der Tabelle 17 ersichtlich. Eine graphische Darstellung dieser Ergebnisse in Prozent ausgedrückt veranschaulicht das Ergebnis noch besser (Abb. 25 und 26).

Tabelle 17

Wachstum von Wurzeln, hellem und dunklem Kallus in Abhängig-
keit von Rutin nach 12 Wochen Kultur (Frischgewicht)

		Kontrolle	Rutin in ppm		
			10	20	30
P. avium	heller Kallus g %	1,62 32,70	2,05 51,47	5,56 73,19	2,40 48,27
	dunkler Kallus g %	2,93 59,14	0,91 22,98	1,79 23,52	1,00 20,17
	Wurzeln g %	0,40 8,16	1,02 25,55	0,25 3,29	1,57 31,56
	Gesamtgewicht g %	4,95 100	3,98 100	7,60 100	4,97 100
P. pseudocerasus	heller Kallus g %	23,08 90,58	21,04 82,94	16,34 87,40	15,88 72,77
	dunkler Kallus g %	2,32 9,10	4,33 17,06	2,33 12,44	5,94 27,23
	Wurzeln g %	0,08 0,32	0	0,03 0,16	0
	Gesamtgewicht g %	25,48 100	25,37 100	18,70 100	21,82 100

Das Kalluswachstum war sowohl bei der Kontrolle als auch bei den verschiedenen Rutingaben bei *P. pseudocerasus* eindeutig größer. Allerdings geht mit steigender Rutinkonzentration eine leichte Abnahme des Wachstums einher.

P. avium verhält sich etwas anders. Hier scheint keine Abhängigkeit zwischen Kalluswachstum und Rutinzugabe zu bestehen. Bei 20 ppm Rutin ist ein Anstieg des Wachstums zu erkennen, der aber nicht signifikant ist.

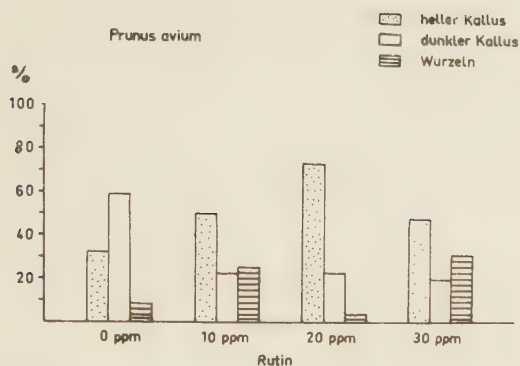


Abb. 25:
 Avium-Kallus nach 12 wöchiger Kultur auf verschiedenen Rutinstufen aufgeteilt in hellen Kallus, dunklen Kallus und Wurzeln

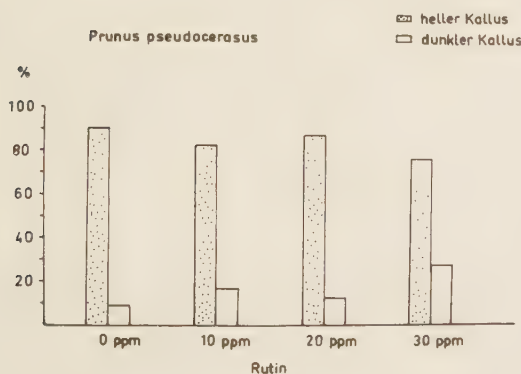


Abb. 26:
 Pseudocerasus-Kallus nach 12 wöchiger Kultur auf verschiedenen Rutinstufen aufgeteilt nach hellem und dunklem Kallus.

Betrachtet man dagegen das Verhältnis von hellem zu dunklem Kallus bei *P. avium*, so ist eine Wirkung des Rutins nicht zu übersehen. Während in der Kontrolle mehr dunkler Kallus produziert wird, tritt bei Zugabe von Rutin das Gegenteil ein. Bei 30 ppm Rutin liegt dann im Sinne der Versuchsanstellung das günstigste Ergebnis vor: größte Wurzelmasse und großer Anteil an hellem Kallus.

Die Wurzelmasse an *Avium*-Kallus wird ebenfalls durch Rutin gesteigert, mit Ausnahme der Werte bei 20 ppm. Hier ist das Gesamtgewicht am größten und das Wurzelgewicht und die Wurzelzahl am kleinsten (siehe Tabelle 17).

Für *P. pseudocerasus* ergibt sich folgendes Bild: Das Gesamtgewicht des gebildeten Kallus hat bei steigendem Rutingehalt abnehmende Tendenz. Der Anteil des hellen Kallus sinkt ebenfalls bei steigender Rutinkonzentration, während der Prozentsatz des oxydierten Kallus zunimmt.

Die Wurzeldifferenzierung, somit auch die Wurzelmasse ist wesentlich schwächer als bei *P. avium* und wird auch nicht durch Rutinzugaben erhöht. Aus diesem Grunde konnte die Wurzelmasse auch nicht graphisch dargestellt werden.

Vergleicht man in der reinen Kalluskultur die Wurzelzahl mit dem Kallusgewicht, so deutet sich für *Avium* eine negative Korrelation an.

3.2. Wirkung des Rutins auf Triebstücke

3.2.1. Wurzelzahl

Die Reaktion der Triebstücke unterscheidet sich in fast allen Punkten von derjenigen der Kallusse (vgl. Tab. 18 und 19). *P. avium* hatte weder in der Kontrolle noch bei den einzelnen Rutinzugaben zu keinem Versuchstermin eine Wurzel ausgebildet. *P. pseudocerasus* hingegen ließ im Winter eine Steigerung des Bewurzelungsergebnisses durch Rutin deutlich werden, wobei die Zuwachsrate zum zweiten Zähltermin nach 35 Tagen außer bei der Kontrolle höher lag als zum ersten Termin nach 21 Tagen.

Beim Wiederholungsversuch im darauffolgenden Sommer war die Wurzelentwicklung auch für *P. pseudocerasus* sehr schlecht. Es ließen sich nach 33 Tagen nur je eine Wurzel in der Kontrolle und bei 20 ppm Rutin feststellen.

Tabelle 18

Wurzelbildung an Triebsegmenten auf 1 ppm NES / 0,01 ppm BA in Abhängigkeit von Rutin im Winter (Gläserzahl pro Serie 15)

eingesetzt am 12. 12. 72

P. avium bildete keine Wurzeln

		Kontr.	Rutin in ppm				
			10	20	30	40	50
<i>P. pseudocerasus</i>	21 Tage	2 4	4 9	0 6	3 5	6 10	5 9
	35 Tage	2 2	5 8	4 6	10 26	7 13	6 15
	Summe	4 6	6 17	4 6	10 31	9 23	8 24
	Ausfall	1	3	4	2	1	3

Tabelle 19

Wurzelbildung an Triebsegmenten auf 1 ppm NES / 0,01 ppm BA in Abhängigkeit von Rutin im Sommer (Gläserzahl pro Serie 8)

	Zähltermin	Kontrolle	Rutin in ppm		
			10	20	30
<i>P. pseudocerasus</i>	23 Tage	1 1	0	1 1	0
	Ausfall	2	2	3	1

eingesetzt am 18. 7. 73

P. avium bildete keine Wurzeln

3.2.2. Kalluswachstum

Die Wägung des an den Triebstücken gewachsenen Kallus brachte nach 35 Tagen ebenfalls im Winter andere Ergebnisse als die reine Kalluskultur. Hatte man im Kallusversuch weder bei *P. avium* noch bei *P. pseudocerasus* eine Wachstumssteigerung durch Rutin festgestellt, so war sie jetzt zumindest bei *P. pseudocerasus* deutlich sichtbar, wie Tab. 20 zeigt. Allerdings trifft das für den Wiederholungsversuch im Sommer nach 33 Tagen Kultur nicht mehr zu. Wie aus Tab. 21 hervorgeht, kann man bei keiner Kirschart von einer Wachstumssteigerung sprechen. Bei *P. pseudocerasus* stellt man sogar einen Abfall fest.

Tabelle 20

Kallusfrischgewicht in Gramm in Abhängigkeit von Rutin nach 35 Tagen Kultur im Winter

Kirschart	Kontr.	Rutin in ppm				
		10	20	30	40	50
Pr.ps.	4,95	5,68	2,72	10,15	12,49	15,25
Pr.av.	0,96	0,46	1,41	1,31	1,82	1,65

Tabelle 21

Kallusfrischgewicht in Gramm in Abhängigkeit von Rutin nach 33 Tagen Kultur im Sommer

Kirschart	Kontr.	Rutin in ppm		
		10	20	30
pr.ps.	2,41	0,18	0,77	0,43
Pr.av.	0,25	0,32	0,22	0,01

3.2.3. Chlorophyllgehalt in den Trieben

Die Ergebnisse der Messungen des noch in den Triebstücken enthaltenen Chlorophylls nach der Kultur in den Tuben sind in der Tab. 22 festgehalten.

Der Chlorophyllgehalt in den *P. avium*-Triebstücken steigt durch die Rutinzugabe, wie die zunehmende Absorption zeigt.

P. pseudocerasus hat in der Kontrolle eine etwas stärkere Absorption als *P. avium*, scheint aber ansonsten unbeeinflusst von Rutin zu sein.

Möglicherweise liegt bei 30 ppm Rutin ein Maximum für die Absorption. Die Werte bei 40 und 50 ppm fallen wieder ab.

Der Einfluß des Rutins auf das Chlorophyll scheint im Sommer nicht anders als im Winter zu sein, denn im Sommer kann ebenfalls ein Anstieg der Absorption bei *P. avium* festgestellt werden wie Tabelle 23 ausweist.

Tabelle 22

Chlorophyllabsorption in Abhängigkeit von Rutin im Winter nach 35 Tagen Kultur

Kirschart	Kontrolle	Rutin in ppm				
		10	20	30	40	50
Pr.av.	0,019	0,046	0,042	0,064	0,035	0,040
Pr.ps.	0,028	0,026	0,038	0,031	-	0,014

Tabelle 23

Chlorophyllabsorption in Abhängigkeit von Rutin im Sommer nach 33 Tagen Kultur

Kirschart	Kontrolle	Rutin in ppm		
		10	20	30
Pr.av.	0,059	0,156	0,11	0,165
Pr.ps.	0,014	0,025	0,023	0,013

3.3. Rutinwirkung bei vom Segment abgetrennten Kallus auf die Wurzelzahl

Bisher wurde festgestellt, daß Kallus, der sich noch an den Triebsegmenten befindet, anders verhält, als in der reinen Kalluskultur. Es sollte nun nachgeprüft werden, ob sich die Bewurzelung verbessert, wenn der Kallus von den Triebstücken getrennt und weiter kultiviert wird, was bedeuten würde, daß von den Triebstücken ein bewurzelungsnegativer Einfluß in dem Kallus wirksam wird. Aus diesem Grund wurde die Konzentration der Nährlösung nicht verändert, sondern lediglich erneuert.

Die Wurzeln wurden zu vier Zeitpunkten gezählt. Das erste Mal wurde 14 Tage nach dem Einsetzen nachgesehen. Die nächsten Zählungen wurden nach 24, 73 und 83 Tagen durchgeführt.

Wie aus der Tabelle 24 hervorgeht, erfuhr der Kallus von P. avium wieder eine Steigerung der Bewurzelung durch Rutin, wobei die Abstufung der Rutingaben wieder nicht im Ergebnis zu erkennen war. Der Zuwachs an Wurzeln war gegen Ende des Versuchs nach 73 Tagen am größten. Eine Zunahme der Wachstumsaktivität war nicht zu erkennen (vgl. Tabelle 16).

Die Wurzelbildung von Pseudocerasus-Kallus war wieder wesentlich geringer als bei P. avium (vgl. Tabelle 16). Allerdings setzte sie jetzt schon nach 14 Tagen ein, um dann aber zu stocken. Es wurde lediglich noch eine Wurzel nach 73 Tagen bei 40 ppm Rutin beobachtet. Ein rhizogener Einfluß des Rutins kann auch hier nicht verzeichnet werden.

Tabelle 24

Wurzelbildung an Kallus in Abhängigkeit von Rutin

(Gläserzahl pro Serie 15)

eingesetzt am 19. 1. 73

	Zähltermin	Kontrolle	Rutin in ppm				
			10	20	30	40	50
P. avium	14 Tage	0	0	2	1	1	0
	24 Tage	0	1	2	0	2	1
	73 Tage	2	4	2	4	3	5
	83 Tage	0	0	1	0	0	0
	Summe	2	5	6	5	5	5
P. pseudocerasus	14 Tage	2	1	2	0	1	2
	24 Tage	0	0	0	0	0	0
	73 Tage	0	0	0	0	1	0
	83 Tage	0	0	0	0	0	0
	Summe	2	1	2	0	2	2

3.4. Vorkultur der Triebstücke ohne Rutin zur Gewinnung von frischem Kallus

Die nächste Versuchsanordnung stellt eine Wiederholung des ersten Kallusversuchs (s. S.79) dar. Zu diesem Zweck wurden Triebsegmente ohne Rutin auf 1 ppm NES / 1 ppm BA und 1 ppm NES / 0,1 ppm BA zum Wachsen angeregt. Wie aus Tab. 25 hervorgeht, differenzierten sich hier schon an P. pseudocerasus nach 26 Tagen bei 1 ppm NES / 1 ppm BA eine und bei 1 ppm NES / 0,1 ppm BA in 7 Gläsern (von 16) Wurzeln, während bei P. avium keine Wurzelbildung stattfand.

Tabelle 25

Wurzelbildung am Triebsegment in Abhängigkeit von NES und BA im
Frühjahr (Gläserzahl pro Serie 16) eingesetzt: 3.1.73

Kirschart	1 ppm NES/1 ppm BA	Ausfall	1 ppm NES/0,1 ppm BA	Ausfall
Pr. avium	0	4	0	-
Pr. pseudoc.	1 1	3	7 18	4

Im Oktober desselben Jahres wurde dieser Versuch in erweiterter Form wiederholt. Es wurden zusätzlich noch die Hormonkombinationen 0,1 ppm NES/1 ppm BA und 0,1 ppm NES/0,1 ppm BA untersucht. Auch zu diesem Termin konnte an *P. avium* keine Wurzelbildung beobachtet werden. *P. pseudocerasus* entwickelte nur in der Hormonstufe 1 ppm NES/0,1 ppm BA in 3 von 16 Gläsern Wurzeln. Auf diesem Hormonniveau hatten sich auch im vorangegangenen Versuch die meisten Wurzeln entwickelt.

3.4.1. Umsetzung des Kallus auf Rutin

Nach vier Wochen wurde der Kallus, der sich im vorstehenden Versuch an den Segmenten gebildet hatte, auf 1 ppm NES und 0,1 ppm BA umgesetzt und neben dieser Kontrolle wurden noch 10, 20 und 30 ppm Rutin geprüft. Der Wiederholungsversuch wurde im Dez. umgesetzt.

Zunächst wurde der Einfluß des Rutins unabhängig von der ursprünglichen Hormonkonzentration betrachtet. In den Tabellen 26 und 27 läßt sich das Ergebnis verfolgen.

Tabelle 26

Wurzelbildung an Kallus in Abhängigkeit vom Rutin, eingesetzt
am 2. 2. 73

Kirschart	Zähltermin	Kontr.	Rutin in ppm		
			10	20	30
Pr. av.	2 Monaten	3 / 5	6 / 11	6 / 10	5 / 7
	4 Monaten	5 / 10	4 / 8	6 / 15	2 / 3
	Summe	5 / 15	8 / 19	9 / 25	6 / 10
	Gläserzahl pro Serie	8	9	9	8
Pr. ps.	2 Monaten	0	3 / 5	1 / 1	1 / 2
	4 Monaten	0	0	0	0
	Summe	0	3 / 5	1 / 1	1 / 2
	Gläserzahl pro Serie	8	8	8	8

Tabelle 27

Wurzelbildung an Kallus in Abhängigkeit von Rutin, eingesetzt
am 17. 12. 73

Kirschart	Zähltermin	Kontr.	Rutin in ppm		
			10	20	30
Pr. av.	16 Tagen	4 / 14	0	3 / 6	3 / 4
	50 Tagen	7 / 17	4 / 9	8 / 15	12 / 26
	76 Tagen	11 / 19	5 / 8	9 / 13	10 / 21
	Summe	15 / 50	7 / 17	14 / 34	14 / 51
	Gläserzahl pro Serie	19	19	19	19
Pr. ps.	16 Tagen	4 / 5	3 / 6	2 / 4	3 / 3
	76 Tagen	5 / 11	2 / 3	4 / 10	7 / 22
	Summe	7 / 16	5 / 9	6 / 4	8 / 25
	Gläserzahl pro Serie	18	17	18	19

Es bestätigt sich wieder, daß *P. avium* in der Kalluskultur besser zur Wurzelbildung anzuregen ist, als *Pr. pseudocerasus*. Eine bewurzelungspositive Tendenz des Rutins läßt sich im Februar anhand der gesteigerten Rhizogenese bei beiden Kirscharten erkennen. Allerdings wird durch den Wiederholungsversuch im Dezember dieser Effekt des Rutins wieder in Frage gestellt. Die Wurzelbildung in der Kontrolle ist nicht schlechter und sie geht auch nicht langsamer vonstatten als bei den verschiedenen Rutingaben. Die beschleunigte Wurzeldifferenzierung, wie sie im ersten Kallusversuch (vgl. S. 79) beschrieben wurde, tritt jetzt nicht mehr zu Tage.

Der Einfluß der ursprünglichen Hormonkonzentration, auf der die Triebstücke den Kallus gebildet hatten, läßt sich aus den Tabellen 28 a - c ansehen.

Das Ergebnis der Kallusumsetzung im Februar unter Berücksichtigung der ursprünglichen Hormonstufe deutet bei beiden Kirscharten auf einen günstigeren Einfluß der Hormonkonzentration 1 ppm NES/1 ppm BA gegenüber 1 ppm NES/0,1 ppm BA hin, denn die erste Hormonkombination brachte bei *P. avium* 75 % Bewurzelung in der Kontrolle und 100 % bei mit Rutin behandeltem Kallus. Demgegenüber stehen die Werte der zweiten Hormonstufe mit 50 % bei der Kontrolle und 78,6 % bei der Rutinbehandlung.

Der Avium-Kallus zeigt auch hier wieder die größere Bewurzelungswilligkeit. Bei beiden Kirscharten ist aber eine positive Rutinwirkung auf die Rhizogenese zu beobachten.

P. pseudocerasus bildete bei 1 ppm NES/0,1 ppm BA überhaupt keine Wurzel. Bei 1 ppm NES/1 ppm BA konnte dagegen in der Rutinbehandlung 41,7 % Bewurzelung festgestellt werden. In der Kontrolle konnten keine Wurzeln gezählt werden.

Der Wiederholungsversuch im Dezember, der um die Vorkultur mit 0,1 ppm NES/1 ppm BA erweitert worden war, zeigte dagegen ein anderes Bild. Gute Bewurzelungsergebnisse bei *P. avium* wurden erzielt bei 1 ppm NES/1 ppm BA und 0,1 ppm NES/1 ppm BA. Allerdings ist die Rutinwirkung in beiden Fällen negativ. Dagegen konnte bei 1 ppm NES/0,1 ppm BA, wo die Kontrolle nur 25 % Bewurzelung brachte, durch Rutin auf 71,4 % gesteigert werden.

Tabelle 28 a

Wurzelbildung an Kallus in Abhängigkeit von Rutin und der ursprünglichen Hormonkonzentration im Februar und im Dezember

ursprüngliche Hormonkonzn. Zeitraum der Kultur	1 ppm NES / 1 ppm BA									
	2. 2. 73 - 14. 6. 73					17. 12. 73 - 3. 3. 74				
Behandlung	Kontrolle	Rutin in ppm				Kontrolle	Rutin in ppm			
		10	20	30			10	20	30	
Wurzelzahl	3	4	4	4	7	6	2	5	7	4
Gläser pro Serie	4	4	4	4	4	7	6	7	4	17
Bewurzelung d. Gläser in %	75	100				85,7	72,2			
Wurzelzahl	0	3	5	1	1	1	2	4	2	3
Gläser pro Serie	4	4	4	4	4	3	3	3	3	11
Bewurzelung d. Gläser in %	0	41,7				33,3	64,4			

Tabelle 28

Wurzelbildung an Kallus in Abhängigkeit von Rutin und der ursprünglichen Hormonkonzentration im Februar und im Dezember

ursprüngliche Hormonkonzn.		1 ppm NES / 0,1 ppm BA													
Zeitraum der Kultur		2. 2. 73 - 14. 6. 73						17. 12. 73 - 3. 3. 74							
Behandlung	Kontrolle	Rutin in ppm			Kontrolle	Rutin in ppm									
		10	20	30		10	20	30							
Wurzelzahl	2	4	10	5	11	2	3	1	4	2	5	4	9	5	16
Gläser pro Serie	4	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	6	6
Bewurzelung d. Gläser in %	50	78,6						25	71,4						
Wurzelzahl	-	-	-	-	-	-	-	2	9	3	10	3	6	6	14
Gläser pro Serie	-	-	-	-	-	-	-	9	9	9	10	10	10	15	15
Bewurzelung d. Gläser in %	-	-						22,2	35,3						

Tabelle 28 c

Wurzelbildung an Kallus in Abhängigkeit von Rutin und der ursprünglichen Hormonkonzentration im Februar und im Dezember

ursprüngliche Hormonkonzen. Zeitraum der Kultur		0,1 ppm NES / 1 ppm BA				
		17. 12. 73 - 3. 3. 74				
Behandlung	Kontrolle	Rutin in ppm				
		10	20	30		
Wurzelzahl	7	2	3	3	5	15
Gläser pro Serie	11					
Bewurzelung d. Gläser in %	7	4	8	8	8	8
	100					
Wurzelzahl	4	0	0	0	-	-
Gläser pro Serie	6					
Bewurzelung d. Gläser in %	5	5	4	4	-	-
	80					

Pseudocerasus-Kallus bewurzelte sich am besten bei 0,1 ppm NES/1 ppm BA mit 80 % in der Kontrolle. Die Rutinbehandlung erbrachte keine Wurzeln. Bei den beiden anderen Konzentrationen ließ sich wieder ein bewurzelungspositiver Effekt des Rutins erkennen (Tab.28a-c).

3.5. Wirkung des Rutins im Avena-Test

Die Messung der Koleoptilenstreckung brachte, wie Tab. 29 zeigt, folgende Resultate: Im Wasser streckten sie sich auf 8,5 mm, IES bewirkte eindeutig die längste Streckung auf 12,6 mm. Von den *P. avium*- und *P. pseudocerasus*-Triebsegmenten, deren Einfluß ebenfalls untersucht wurde, scheint eine Hemmung auf die durch IES induzierte Streckung der Koleoptilen auszugehen. Allerdings liegen die Werte immer noch höher als bei der Wasserkontrolle. Die Zugabe von Rutin bleibt offenbar ohne Einfluß auf die Koleoptilenstreckung, denn die Hemmung durch die Triebstücke kann durch Rutin nicht aufgehoben werden.

Tabelle 29

Streckung der Avena-Koleoptilen in Abhängigkeit von IES, Rutin und diffundierten Stoffen aus Avium- und Pseudocerasussegmenten
(Ausgangslänge = 5,8 mm)

Behandlung	Ø Länge in mm	△
Wasser	8,5	2,7
wässrige IES	12,6	6,8
" " + Pc	9	3,2
" " + Pc + R.	9,5	3,7
" " + Av	10,3	4,5
" " + Av. + R.	9,5	3,7

Erklärung: Pc = *Pseudocerasus*-Segment
Av = *Avium*-Segment
R. = Rutin

4. Diskussion

4.1. Wurzeln an Triebstücken

Der gehemmten Wurzelinduktion an Avium-Triebstücken konnte durch Rutin-Applikation in den Konzentrationen 10-50 ppm nicht begegnet werden. Wie der Hormonversuch schon gezeigt hatte, war die Bewurzelung von Pseudocerasus-Triebstücken bei der in der Methode beschriebenen Behandlungsweise auch in diesem Versuch möglich. Die Versuchsserie im Winter läßt den Eindruck entstehen, daß von Rutin auf diese Kirschart ein günstiger Einfluß auf die Wurzelentwicklung ausgeht. Dieses Ergebnis ist aber nicht in jeder Jahreszeit zu sichern (vgl. Tab. 18 und 19). In der Untersuchung im Sommer ist die Bewurzelung für P.pseudocerasus allgemein sehr schlecht und eine fördernde Tendenz kann nicht wahrgenommen werden.

Daraus resultiert, daß die Blockierung der Wurzelentwicklung von P.avium Trieben nicht durch Rutin aufgehoben werden kann, oder daß das Rutin selbst zwar bewurzelungsfördernd wirken kann, hier jedoch durch andere Stoffe in seinem Aktionsbereich gehemmt ist.

P.pseudocerasus scheint, wie die dünnschichtchromatographischen Untersuchungen ergeben haben, mehr endogenes Rutin als P.avium zu haben. Das endogene Rutinniveau könnte - sofern überhaupt eine Wirkung vorhanden ist - in den Trieben schon optimal sein, so daß eine Zugabe dieser Substanz keine Auswirkung mehr zeigt.

4.2. Wurzeln an Kallus

Die Wirkung des Rutins auf die Wurzelentwicklung an Kallus wurde in vier Versuchsanordnungen untersucht. Die Ergebnisse dieser Prüfungen waren jedoch nicht einheitlich, so daß eine allgemeingültige Aussage über die Rutinwirkung hinsichtlich der Wurzeldifferenzierung schwerfällt. Eines kann indessen als sicher angesehen werden, von Rutin - wird es in den Konzentrationen 10 - 550 ppm appliziert - geht weder auf P.pseudocerasus noch auf P.avium eine hemmende Wirkung auf die Adventiv-

wurzelbildung aus. Allerdings kann man von einer allgemeinen Förderung durch Rutin bei beiden Kirscharten auch nicht sprechen.

Die Phenoluntersuchungen erbrachten, daß im Kallus beider Kirscharten die phenolischen Substanzen in viel kleineren Mengen vorliegen als in den Trieben. Die Versuche mit Kallusmaterial in der Gewebekultur wiesen nach, daß die Differenzierungsfähigkeit von *P.pseudocerasus* Kallus nicht so stark ausgeprägt ist wie die des *Avium*-Kallus (vgl. S.41). Folgt man der Hypothese, daß Rutin einen Bewurzelungsfaktor darstellt (LEE und TUCKEY, 1971; JANKIEWICZ, BOJARCZUK, PIATKOWSKI, 1973), so müßte der Kallus von *P.pseudocerasus* durch diesen Stoff zur Wurzelbildung anzuregen sein.

Auf der anderen Seite hat sich der Phenol-Verdünnungseffekt auch in *Avium*-Kallus gezeigt. Dieser konnte sich wiederum auch ohne exogenes Rutin bewurzeln, d.h., daß die Rhizogenese am Kallus eher auf eine Verminderung der im Trieb enthaltenen Hemmstoffe zurückzuführen ist (vgl. S.69).

Man kann vermuten, daß Rutin die Adventivwurzelbildung von *Pseudocerasus*-Kallus und Trieben nicht beeinflußt. *Avium*-Kallus scheint ebenfalls nicht allgemein direkt auf Rutin zu reagieren. Vermutlich gibt es aber jedoch während der endogenen Stoffschwankungen bestimmte Phasen, in denen indirekt von Rutin zusätzlich eine positive Wirkung ausgehen kann.

4.3. Kalluswachstum

Es konnte festgestellt werden, daß *P.avium* und *P.pseudocerasus* sich sowohl in der Internodienkultur als auch in der Kalluskultur im Wachstum unterscheiden.

Aufgrund der Ergebnisse aus der Kalluskultur könnte man vermuten, daß starkes Wachstum, wie es bei *Pseudocerasus*-Kallus zu beobachten ist, mit geringerer Wurzelbildung korreliert ist (Tab. 16 und 17), während die Reaktion des *Avium*-Kallus auf das Gegenteil hindeutet. Von reger Stecklingsbewurzelung bei zugleich hohen Hemmstoffgehalten in der Stecklingsbasis berichten LIPECKI und DENNIS (1972). Möglicherweise ist

die fast unterdrückte Kallusbildung bei *P. avium* eine wichtige Voraussetzung für die Wurzelentwicklung.

Es stellt sich allerdings gleich die Frage, ob Wachstum und Differenzierung in echter Abhängigkeit zueinander stehen, wenn man die ebenfalls geringere Kallusentwicklung am *Avium*-Triebsegment in Betracht zieht, denn hier ist die Wurzelbildung stark gehemmt. Die verschiedenen Rutingaben ließen weder bei *P. avium* noch bei *P. pseudocerasus* eine wesentliche Wachstumsbeeinflussung erkennen. Wobei allerdings das Ergebnis bei 20 ppm Rutin etwas herausfällt, denn hier läßt sich bei *P. avium* ein vermehrtes Wachstum und bei *P. pseudocerasus* ein vermindertes Wachstum feststellen, was aber eventuell durch andere Faktoren bedingt ist. Diese Erscheinung stört zwar in der Rutinuntersuchung, aber sie veranschaulicht den oben genannten Tatbestand. In dieser Spalte tritt bei *P. avium* das größte Wachstum aber die geringste Wurzelbildung auf.

Während das Wachstum in der reinen Kalluskultur an sich von Rutin unbeeinflußt zu sein schien, war doch offensichtlich, daß diese Substanz auf Oxydationsprozesse Einfluß nehmen muß. Mit steigender Rutinkonzentration nahm bei *P. avium* der Anteil an nicht oxydiertem Kallus zu, während der oxydierte immer geringer wurde. *P. pseudocerasus* verhielt sich in dieser Hinsicht gerade umgekehrt, auf die Zahl der entwickelten Wurzeln scheint dieses Phänomen keine Auswirkung zu haben, wohl aber auf die Wurzelmasse. Vielleicht könnte man es sich folgendermaßen erklären: abgesehen von anderen Faktoren kann oxydierter Kallus Wurzeln differenzieren. Aber der Stoffwechsel in nicht oxydiertem Kallus übt auf das Wachstum der Wurzel einen günstigen Einfluß aus. Womit wieder deutlich wird, daß Wachstum und Differenzierung unterschiedliche Prämissen haben. STONIER et al. (1970, 1971) beschrieben als Ursache für die Entscheidung ob Zellteilung oder Differenzierung, Oxydations- und Reduktionsvorgänge an phenolischen Komponenten.

Die Kallusbildung an Triebsegmenten unter Rutineinwirkung erfolgte nach anderen Regeln. Im Dezember eingesetzte Triebstücke entwickelten mit steigender Rutingabe bei beiden Kirscharten mehr Kallus. Die im Juli eingesetzten Segmente ließen dagegen bei beiden Kirscharten ein Absinken des Wachstums bei

gesteigerter Rutinzufuhr erkennen. Offensichtlich kommen hier die verschiedenen Jahreszeiten zum Tragen. Mit anderen Worten, Kallus bleibt relativ unbeeinflusst von Rutin, was das Wachstum anlangt und die Triebstücke beider Kirscharten reagieren je nach Jahreszeit positiv oder negativ auf Rutin.

Der Frage einer Wachstumssteigerung durch Rutin wurde mittels des Avena-Tests nochmals nachgegangen. Hierbei wurde deutlich, daß erstens in beiden Kirscharten wachstumshemmende Stoffe enthalten sind, und daß zweitens Rutin, das wie TOMASZEWSKI (1964) gezeigt hat, wachstumsfördernd wirkt, diesen Stoffen nicht entgegenwirkt. Dieser Test wurde im Sommer durchgeführt. Es zeigt sich, daß sein Ergebnis nicht im Einklang mit den Untersuchungen in vitro steht. Möglicherweise ist das ein Ausdruck dafür, daß Rutin je nach endogenem Stoffgehalt pflanzenspezifisch reagiert.

4.4. Beziehungen zwischen Chlorophyllgehalt und Bewurzelung

Die Chlorophyllmessung der Triebstücke nach der Kultur lieferte auch keinen Beitrag, diese Zusammenhänge zu klären. Es könnte in fast allen Fällen beobachtet werden, daß der Abbau des Chlorophylls mit steigender Rutinapplikation verringert war, was KARANOV (1972) an *Raphanus sativus* ebenfalls nachweisen konnte. Es bot sich zunächst die Möglichkeit an, daß die Erhaltung des Chlorophylls ein entscheidender Faktor in der Frage des Wachstums hätte sein können. Aber es scheinen keine direkten Beziehungen vorzuliegen, da in beiden Versuchen im Sommer wie im Winter das Chlorophyll durch Rutin aktiv blieb, aber die Wachstumsaktivität nur im Winter anstieg. Dieser Effekt des Rutins beruht sehr wahrscheinlich auf einer Hemmwirkung der Oxydationsprozesse, der man schon in der Kalluskultur begegnet ist.

V. Gesamtdiskussion

Die vorliegenden Untersuchungen hatten das Ziel, physiologische Vorgänge bei der Wurzelinduktion an *P. avium* und *P. pseudocerasus* zu erfassen, um daraus einen Nutzen für deren praktische Vermehrung zu ziehen. Dazu dienten einerseits die Gewebe- und Internodienkultur und andererseits sollten stoffliche Differenzen zwischen beiden *Prunus*-Arten erfaßt werden. Hierfür wurden die Phenole ausgewählt, da sie in mannigfacher Weise den endogenen wie auch den exogen manipulierten Auxinspiegel zu ändern vermögen (HEMBERG, 1951; GOLDACRE, GALSTONE und WEINTRAÜB, 1953; BASTIN, 1966; GORTER, 1969; JACKSON und HARNEY, 1970), denn das Auxin kann als ein Hauptfaktor der Wurzelinduktion angesehen werden, wie die praktische Erfahrung lehrt und wie viele Publikationen ausweisen (HEIDE, 1965; LAGERSTEDT, 1967; HOWARD, 1968; VAIRA, 1969; OLIEMAN-VAN DER MEER, PIERIK und ROEST, 1971; ROVERSI, 1972).

1. Einflüsse der Hormone auf die Wurzelbildung bei *P. avium* und *P. pseudocerasus*

Es kristallisierte sich in den vorliegenden Ergebnissen heraus, daß Auxin für die beiden untersuchten Kirscharten durchaus einen nach oben und unten limitierenden Faktor in Bewurzelungsvorgängen darstellt. Es muß jedoch meistens in sehr niedriger Konzentration vorliegen. Allerdings war die Auxinwirkung bei Einzelanwendung stark reduziert. Die Versuche deuten darauf hin, daß nur eine Kombination mit einem anderen Hormon die Wurzelbildung auslöst. Wird BA als zweites Hormon angewendet, so zeigt sich die Wurzelbildung nur, wenn die Konzentration niedriger als die des Auxins ist (MOHR, 1969; HEIDE, 1965, 1972). *Pseudocerasus*-Triebstücke reagierten auch gut auf eine kombinierte IBS/ABS-Behandlung. Von einer Bewurzelungssteigerung an Dahlien durch diese Hormonkombination berichten ebenfalls BIRAN und HALEVY (1973).

Es wurde aber deutlich, daß mit den Hormonen allein bei Avium-Trieben kein wesentlicher Anstieg der Rhizogenese zu erreichen ist.

GAMBORG, CONSTABEL und SHYLUK (1974) untersuchten Sproßspitzen von *Pisum sativum* in vitro. Auch sie beobachteten eine Wurzelbildung, die in keiner Beziehung zu den applizierten Hormonstufen stand. Eine absolute Manipulierbarkeit des Prunus-Kallus durch Hormone wie bei Tabak (SKOOG und MILLER, 1957) oder Petunien (RAO, HANDRO und HARADA, 1973) ist nicht gegeben.

2. Bewurzelungsreaktion der Triebstück- und Kalluskultur

Beobachtungen der Kallus- und Triebstückkulturen haben markante Unterschiede beider Methoden auf die beiden Kirscharten erbracht, die vielleicht einen kleinen Einblick in die physiologischen Vorgänge der Adventivwurzelbildung erlauben.

Avium-Triebstücke lassen sich trotz Optimierung vieler Faktoren nur sehr schlecht bewurzeln. Pseudocerasus-Triebstücke machen hingegen keine sehr großen Schwierigkeiten. Allerdings blieb sowohl bei *P. avium* als auch bei *P. pseudocerasus* in der Internodienkultur der Prozentsatz der Bewurzelung in der Sprühnebelvermehrung (20 % bzw. 100 %) unerreicht (unveröffentlichte Arbeit des Instituts). Der Kallus beider Kirscharten zeigte das jeweils gegenteilige Verhalten.

Die unerwartet geringe Wirkung der Wuchsregulatoren auf die Rhizogenese gab Veranlassung, einen weiteren Stoffkomplex, nämlich die Phenole, genauer zu untersuchen.

3. Einflüsse der Phenole auf die Wurzel differenzierung

Es besteht die Möglichkeit, daß bestimmte Substanzen des sekundären Stoffwechsels eine Rolle bei rhizogenen Vorgängen spielen. Auch unter diesem Gesichtspunkt bieten sich die Phenole als Indikatoren eines unterschiedlichen sekundären Stoffwechsels (wurzelinduktiv / wurzelhemmend) an.

Oxydierte Phenole von Äpfel- und Birnenfrüchten (POAPST, DURKEE und JOHNSTON, 1970) wurden als teilweise stark wurzelfördernd befunden.

Schon TRYON (1956) weist auf die Beziehungen zwischen

dem Scopoletingehalt von Tabak-Kalluskulturen und deren Tendenz zur Sproßdifferenzierung hin. Die tieferen Ursachen sind vermutlich in der durch Phenole gesteuerten Oxydation indolartiger Wuchsregulatoren zu suchen. Oxydative Reaktionsabläufe sollen die Differenzierungsprozesse begünstigen (STONIER et al., 1970, 1971).

Allerdings zeigten die vorliegenden Versuche, daß die Zugabe von Rutin (S.76) oder auch DOPA (S.23) bei den verwendeten Triebstücken die Differenzierung nicht einleiten können. Dies deutet darauf hin, daß die Wurzelbildung bei *P.avium* von einem großen Komplex ineinandergreifender Faktoren ausgelöst wird, indem Rutin möglicherweise nur ein Glied in der Kette ist und nicht den Ablauf des ganzen Mechanismus verändern kann.

4. Phenolverteilung in Trieben und Kallus

Durch die Phenoluntersuchungen an Trieben und Kallus ergibt sich folgendes Bild: für beide Kirscharten gilt, daß Kallusgewebe gegenüber Sproßgewebe durch eine starke Reduzierung der phenolischen Komponenten gekennzeichnet ist. Der Unterschied zwischen *P.avium* und *P.pseudocerasus* liegt bei Kallus sowie bei den Trieben im wesentlichen in drei charakteristischen Substanzen, die nur in *P.avium* zu finden sind. Welche Konsequenzen resultieren daraus für die Erklärung der unterschiedlichen Bewurzelbarkeit beider Kirscharten? Bei den drei Phenolen von *P.avium* könnte es sich um Substrate ähnlich den Monophenolen handeln, die in bestimmten Konzentrationen die IES-Oxydation fördern (ZENK und MÜLLER, 1963).

Betrachtet man aber das Kallusverhalten beider Kirscharten, so zeigt sich, daß *Avium*-Kallus relativ gut zu bewurzeln ist, obwohl sich hier die gleichen Stoffe wie in den Trieben finden lassen, aber in merklich abgeschwächter Form. *Pseudocerasus*-Kallus dagegen besitzt nur eine geringe Wurzelbildungspotenz, Obwohl die endogenen Phenole ebenfalls - wie bei *Avium*-Kallus- in verdünnter Form vorliegen. Für die Verringerung endogener Stoffe im Kallusgewebe sprechen auch Untersuchungen von CHATURVEDI und MITRA (1974). Sie produzierten Citrus-Kallus aus Stamm- und Blattgewebe und stellten fest, daß die Viruskonzentration in intakten Pflanzen weitaus größer ist als in Kallus.

5. Einfluß des Lichtes auf die Bewurzelung

Die Verdünnung der Phenole im Kallus ist zum Teil mit einer Folge der Gewebekultur im Dunkeln. Sie zeigt, daß der Stoffwechsel gedrosselt und vermutlich sogar teilweise blockiert ist. Dieser Mangel ließ sich zum Teil durch Licht beheben (HILLIS und SWAIN, 1959; HENKE, 1959). Insbesondere werden die Aminosäuren im Kallus durch Licht erheblich gefördert (FEUCHT, mündl.) mündlich). Nun kann aber der Lichtfaktor nicht genutzt werden, weil gerade dadurch in der Regel die Wurzelbildung blockiert wird (OLIEMAN-VAN DER MEER, PIERIK und ROEST, 1971). Die gärtnerische Stecklingskultur vermag beide Vorteile zu kombinieren, da der obere Pflanzenteil im Licht ist und hier somit ein optimaler Stoffwechsel gewährleistet ist, während der untere Teil im Dunkeln ist.

6. Die Bedeutung der Jahreszeit für die Bewurzelung in vitro

In der Literatur wird auf die Bedeutung des Jahreszyklus hingewiesen (HOWARD und NAHLAWI, 1969; FADL und HARTMANN, 1967; NANDA und ANAND, 1970; HARTMANN und HANSEN, 1958). Im Hinblick auf die Bedeutung dieses Umweltfaktors für die Bewurzelung von Avium-Kallus und Avium-Triebsegmenten ergeben sich keine wesentlichen Gesichtspunkte, angesichts der Tatsache, daß die Triebe während des Zeitraumes von zwei Jahren mit verschiedener Witterung und zu beliebigen Jahreszeiten geschnitten und kultiviert wurden. Die Zahl der bewurzelten Avium-Segmente war trotz konstanten Bedingungen in der Kultur gleichbleibend gering. Das Auftreten der vereinzelter Wurzeln paßte in kein Jahreszeit bedingtes Schema.

7. Beurteilung der in vitro-Kultur für die Bewurzelung von Obstgehölzen

Das Untersuchungsobjekt - ausgereifte Internodiensegmente aus Kirschtrieben - gilt als schwierig. MURASHIGE (1974) hebt hervor, daß die bisher bekannten Informationen zur Gewebekul-

tur an krautigen Pflanzen gewonnen wurden, während bei Holzgewächsen nur vereinzelt, z.B. WINTON (1968) erfolgreiche Organdifferenzierung aus Trieben erfolgte.

Eine Meristemkultur aus isolierten Knospen wäre sicherlich mit mehr Erfolg durchzuführen. Dem steht jedoch entgegen, daß das Apikalmeristem mikroskopisch und nur mit großer Erfahrung aus der Knospe zu isolieren ist, sodaß diese Methode für eine schnelle Verklonung in der Praxis kaum in Frage kommt (MURASHIGE, 1974).

Jedes Explantat wird physiologisch vom Gesamtsproßverband isoliert. Häufig wirkt sich die Eliminierung der korrelativen Einflüsse positiv auf die Organogenese am Explantat aus, dann nämlich, wenn korrelative Hemmungen vorgelegen haben (WILKINS, 1969).

Nach den vorliegenden Befunden zu schließen, hat sich die Isolierung des Explantats bei *P. avium* als nachteilig erwiesen. Die Nährmedien konnten bestimmte rhizogene Substanzen, die offenbar transportabel sind (HESS, 1969) und von der Sproßspitze zugeleitet werden, nicht ersetzen.

Eingangs wurde davon ausgegangen, daß es zwei Möglichkeiten für die blockierte Wurzelentwicklung gebe: das Fehlen wurzelfördernder Stoffe und die Hemmstofftheorie. Möglicherweise führt die übliche Verdünnung des Phenolgehaltes bei Gewebekulturen (FORREST, 1969) bei *Avium*-Kallus aus dem hemmenden in den fördernden Bereich, während die wurzelinduktiven Stoffe bei *P. pseudocerasus* ins Minimum geraten. Diese These impliziert, daß die Wurzelinduktion von *P. avium* und *P. pseudocerasus*, obwohl einer Art angehörig, von verschiedenen Substanzen oder Mechanismen ausgelöst wird.

Wenn man davon ausgeht, daß in *Avium*-Triebsegmenten tatsächlich Hemmstoffe die Wurzelbildung unterbinden, so müßte man die experimentellen Aktivitäten mehr der intakten Mutterpflanze zuwenden, um durch geeignete Anzuchtmethoden den endogenen Stoffspiegel in positiver Weise zu beeinflussen.

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß auch bei der reinen Gewebekultur (ohne Internodium) die *in vitro*-Methode für die untersuchten Kirscharten noch erhebliche Mängel aufgrund der

Heterogenität des Kallus aufweist, die auch von CONSTABEL, NASSIF - MAKKI (1971) bei Beta-Kalluskulturen nachgewiesen wurde. Eine ausreichende Standardisierung konnte auf diese Art nicht erreicht werden. Es wurde beobachtet, daß Kallus aus einem Glas in seinem Verhalten nach der Aufteilung in mehrere Gläser nicht mehr identisch reagiert. Die Unterschiede können noch gravierender werden, wenn es sich um Kallus aus einer Serie aber aus verschiedenen Gläsern handelt. Die Differenzierungswilligkeit des umgesetzten Kallus kann gut bis schlecht sein. Allein aus diesem Grund können die einzelnen Serien schon eine große Variationsbreite haben. Die Existenz von physiologischen Gradienten, die sich im Laufe der Zeit im Kallus bilden, wird von YEOMAN et al. (1965) eingehend beschrieben. Daraus kann die Bildung von einzelnen Meristemherden resultieren. Es können jedoch auch große, aufgeblähte Parenchymgewebe entstehen. Unter günstigen Bedingungen können solche Meristemherde zur Xylem- oder Wurzeldifferenzierung übergehen.

In der Einleitung ist angeklungen, daß die Vermehrung in vitro für die Züchtung wegen der damit ungleich höheren Vermehrungsrate der Klone (CHATURVEDI und MITRA, 1974), gute Voraussetzungen mit sich bringen könnte. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, daß die Durchführung eines derartigen Projektes mit one-node-segments bei solchen Prunusformen möglich ist, die sich wie *P. pseudocerasus* an Internodiensegmenten gut bewurzeln lassen. Demgegenüber steht die Gruppe der schwer bewurzelbaren Formen, wie *P. avium*, wo noch keine befriedigende Lösung gefunden werden konnte. Auch MOUSION und DUNEZ (1971) hatten bei *P. avium* mit der Knospen-Internodienkultur keinen Erfolg.

Bei der reinen Kalluskultur stellt sich neben der Bewurzelung das Problem der Sproßinduktion. Darüber ist jedoch bei Obstgehölzen, soweit bekannt, noch nicht berichtet worden.

Die Problematik der Wurzelinduktion bei *P. avium* mag abschließend der Vergleich mit einem Zahlenschloß darstellen. Die schwierig zu bewurzelnde *P. avium* hat nur eine einzige Zahlenkombination, *P. pseudocerasus* jedoch mehrere, die zur Wurzelbildung führen.

VI. Zusammenfassung

Die Adventivwurzelbildung von *P. avium* bereitet in praxi große Schwierigkeiten. Um Verbesserungsmethoden und die dafür verantwortlichen physiologischen Ursachen zu finden, wurden Sproßstücke von *P. avium* und der gut wurzelnden *P. pseudocerasus* in der Gewebekultur auf einem modifizierten MURASHIGE-SKOOG-Medium kultiviert. Es wurden die Hormone IBS, NES, 2,4-D, ABS, BA und andere Substanzen wie Chloramphenicol, Actinomycin-D, DOPA und Rutin auf rhizogene Einflüsse bei beiden Kirscharten untersucht.

Daneben wurde versucht, die Phenolmuster von *P. avium* und *P. pseudocerasus* dünn-schichtchromatographisch zu analysieren. Es konnten folgende Ergebnisse beobachtet werden:

1. Triebsegmente und Kallus beider Kirscharten sind in der Lage, *in vitro* Wurzeln zu bilden.

2. Die Bewurzelungswilligkeit ist bei Triebstücken von *P. pseudocerasus* größer als bei *P. avium*. Bei Kallus dagegen herrschen umgekehrte Verhältnisse.

3. Ohne Auxin im Nährmedium ist eine Bewurzelung bei beiden Kirscharten nicht möglich.

4. Die verschiedenen Auxine unterscheiden sich in ihrer Wirkintensität voneinander. Das Kalluswachstum nimmt - bei den untersuchten Konzentrationen - von 2,4-D über NES nach IBS ab.

5. Das Wachstum steht möglicherweise in umgekehrtem Verhältnis zur Wurzelbildung.

6. Die untersuchten Kirscharten reagieren mit Wurzelentwicklung hormonspezifisch.

a) 2,4-D in den Konzentrationen 0,1, 1 und 10 ppm scheidet für die Bewurzelung beider Kirscharten aus.

b) Triebstücke und Kallus von *P. pseudocerasus* reagieren auf IBS mit einer besseren Wurzelentwicklung als auf NES.

c) *Avium*-Triebstücke und -Kallus scheinen dagegen besser mit NES zur Rhizogenese zu stimulieren zu sein.

d) Als günstigste Hormonkombination für Triebsegmente und Kallus von *P. pseudocerasus* hat sich IBS/ABS gezeigt. Avium-Triebstücke bilden eher bei NES/BA Wurzeln aus. Kallus bewurzelt sich sowohl bei NES/BA als auch bei NES/ABS.

7. Avium-Kallus reagiert positiv auf eine Hormonabsonkung in der Subkultur. Bei *Pseudocerasus*-Kallus läßt sich dieser Effekt nicht unbedingt feststellen.

8. Die augenscheinlich vorliegende genetische Blockierung der Wurzelbildung bei *P. avium*-Trieben kann durch Chloramphenicol und Actinomycin-D -getrennt oder in Kombination appliziert - nicht aufgehoben werden. Eine nachträgliche Auxinapplikation (0,4 ppm) bewirkt auch keine Veränderung

9. DOPA hat bei beiden Kirscharten keinen Einfluß auf die Adventivwurzelbildung von Sproßsegmenten. Es wirkt aber auf auxininduziertes Wachstum additiv unterstützend.

10. Es konnte nachgewiesen werden, daß in *P. avium*-Trieben endogen mehr Phenole enthalten sind als in *P. pseudocerasus*.

11. Der Phenolgehalt im Kallus beider Kirscharten ist weitaus geringer als in Trieben.

12. Die in *P. pseudocerasus* vorkommenden Flecken mit eindeutiger Identität können auch bei *P. avium* festgestellt werden. Bei letzterer konnten darüber hinaus vier weitere Substanzen beobachtet werden. Diese Stoffe konnten nicht benannt werden.

13. Flecken, die in beiden Kirscharten auftreten, konnten teilweise identifiziert werden. Demnach sind Chlorogensäuren, Rutin, ein Cumarsäurederivat, Catechin, Epicatechin und Leucoanthocyan in den Sprossen von *P. avium* und *P. pseudocerasus* enthalten.

a) der Anteil an Chlorogensäuren ist bei beiden Kirscharten etwa gleich.

b) Rutin scheint in *P. pseudocerasus* vergleichsweise stärker vertreten zu sein.

c) Das Cumarsäurederivat weist keine deutlichen Mengenunterschiede auf.

d) Catechin ist nachweislich stärker in *P. avium* vertreten.

e) Der Epicatechingehalt macht bei beiden Arten keine großen Unterschiede.

f) In der Aviumwurzel findet eine Epicatechinanreicherung statt.

g) Im Leukoanthocyaningehalt konnte kein wesentlicher Unterschied festgestellt werden.

14. Rutin hat weder bei Triebsegmenten noch bei Kallus auf keine der beiden Kirscharten eine beständig erkennbar wurzelinduktive Wirkung.

15. Das Kalluswachstum in der Subkultur bleibt bei beiden Arten von Rutin unbeeinflusst.

16. Die Kallusbildung am Segment zeigt eine jahreszeitlich bedingte Wirkung auf Rutin. Im Dezember scheint eine Wachstumssteigerung im Sommer eine -verringering die Folge auf Rutinapplikation in vitro zu sein.

17. Es kann ein Eingriff in Oxydationsprozesse durch Rutin festgestellt werden. In diesem Punkt wird eine artspezifische Reaktion bei beiden Kirscharten erkennbar. Bei Avium-Kallus steigt bei Rutinzugabe der Anteil an hellem nicht oxydiertem Kallus. *P. pseudocerasus* zeigt gegenteiliges Verhalten.

18. Nicht oxydierter Kallus hat einen positiven Einfluß auf die Wurzelmasse nicht auf die Wurzelzahl.

19. In den Trieben beider Arten sind Stoffe enthalten, die das Wachstum der Avena-Koleoptile hemmen. Rutin wirkt diesen Hemmstoffen im Avena-Test nicht entgegen.

20. Der Abbau des Chlorophylls in den Triebsegmenten wird durch Rutinzugaben im Sommer wie im Winter verlangsamt.

Literaturübersicht

- ANDREASSON, D.C.; ELLISON, J.H.; 1967:
Root initiation of stem tip cuttings from
mature Asparagus plants.
Proc.Amer.Soc.Hort.Sci.90: 158-162
- AUDUS, L.J.; 1965:
Plant growth substances.
London
- AVERY, G.S.; JOHNSON, E.B.; 1947:
Hormones and horticulture.
New York
- BADR, S.R.; 1973:
Root initiation on grape cuttings as in-
fluenced by time of collection and treatment
with growth regulators.
Hort Science, 8 (3): 197-274
- BASOCCU, L.; 1972:
Effect of synergism and antagonism of cer-
tain substances on the rhizogene activity
of IAA in the rooting of Dracaenae dere-
mensis cuttings.
Riv.del.Ortofl.Ital. 56 (5-6): 341-346
- BASTIN, M.; 1966:
Root initiation, auxin level and biosynthe-
sis of phenolic compounds.
Photochem.Photobiol., 5: 423-429
- 1968:
Synthesis and destruction of hormones in
relation to auxin transport. In: The trans-
port of plant hormones by Y. VARDAR.
North Holland Publishing Company, Amsterdam
- BASU, R.N.; BOSE, T.K.; ROY, B.N.; MUKHOPADHYAY, A.; 1969:
Auxin synergists in rooting of cuttings.
Physiol.Plant., 22: 649-652
- BASU, R.N.; ROY, B.N.; BOSE, T.K.; 1970:
Interaction of abscisic acid and auxins
in rooting of cuttings.
Plant and Cell Physiol., 11: 681-684
- BERGMANN, L.; BERGMANN, A.L.; 1968:
Aktivierung der Biosynthese von Thiamin
in Kalluskulturen von Nicotiana tabaccum
im Licht.
Planta, 79: 84-91
- BIRAN, I.; HALEVY, A.H.; 1973:
Endogenous levels of growth regulators
and their relationship to the rooting
of Dahlia cuttings.
Physiol.Plant., 28: 436-442

- BRIAN, P.W.; HEMMING, H.G.; LOWE, D.; 1960:
Inhibition of rooting of cuttings by
gibberellic acid.
Ann.Bot., 24: 407-419
- BOUILLENNE, R.; BOUILLENNE-WALRAND, M.; 1955:
Auxines et bouturage.
XIV Int.Hort.Cong., 1: 231-238
- BOUILLENNE, R.; WENT, F.W.; 1933:
Recherchès experimentales sur la neo-
formation des racines dans les plantules
et les boutures des plantes superieures.
Ann.Jard.Bot.Buitenzorg, 43: 25-202
- CARPENTER, J.B.; 1961:
Occurrence and inheritance of preformed
root primordia in stems of citron
(*Citrus medica* L.).
Proc.Amer.Soc.Hort.Sci., 77: 211-218
- CHALLENGER, S.; LACEY, H.J.; HOWARD, B.H.; 1964:
The demonstration of root promoting
substances in apple and plum rootstocks.
Rpt.E.Malling Res.Sta.for 1964, A 48:
124-128
- CHATURVEDI, H.C.; MITRA, G.C.; 1974:
Clonal propagation of Citrus from
somatic callus cultures.
Hort Sciences, 9 (2): 118-120
- CHILDERS, J.T.; SNYDER, W.E.; 1957:
The effect of time of taking cuttings
on the rooting of three cultivars of
American holly (*Ilex opaca*).
Proc.Amer.Soc.Hort.Sci., 70: 445-450
- CHIN, T.Y.; MEYER, M.M.; BEEVERS, L.; 1969:
Absciscic-acid-stimulated rooting of
stem cuttings.
Planta, 88: 192-196
- CONSTABEL, F.; NASSIF-MAKKI, H.; 1971:
Betalainbildung in Beta-Callus-
kulturen.
Ber.Dtsch.Bot.Ges., 84 (10): 629-636
- COOPER, W.C.; 1938:
Hormones and root formation.
Bot.Gaz., 99: 599-614
- CORBETT, L.C.; 1897:
The development of roots from cuttings.
W.Va.Agr.Exp.Sta.Ann.Rpt.; 9 (1895-96):
196-199
- DIGBY, J.; WAREING, P.F.; 1966:
The effect of applied growth hormones
on cambial division and the differentia-
tion of the cambial derivatives.
Ann.Bot.; 30: 539-548

DOAK, B.W.; 1940:

The effect of various nitrogenous compounds on the rooting of Rhododendron cuttings treated with naphthaleneacetic acid.

New Zealand Jour.Sci.and Tech., 21:
336A-343A

ECCHER, T.; 1972:

Rooting of Prunus sinensis cuttings at different temperatures with the use of IBA and IAA.
Riv.del.Ortofl.Ital., 56 (5-6): 373-385

ELIASSEN, L.; 1969:

Growth regulators in Populus tremula I. Distribution of auxin and growth inhibitors.
Physiol. Plant., 22: 1288-1301

FADL, M.S.; HARTMANN, H.T.; 1967:

Isolation, purification, charakterization of an endogenous root-promoting factor obtained from basal sections of pear hardwood cuttings.
Plant Physiol., 42: 541-549

-

1967:

Relationship between seasonal changes in endogenous promoters and inhibitors in pear buds and cutting bases and the rooting of pear hardwood cuttings.
Proc.Amer.Soc.Hort.Sci., 91: 96-112

FAWCETT, C.H.; 1961:

Indole auxins.
Ann.Rev.Plant Physiol., 12: 345-368

FEUCHT, W.; DAUSEND, B.; 1972:

Induktion von Wurzeln bei oxydierenden Prunus-Kalluskulturen unter dem Gesichtspunkt des Auxinspiegels und der Phenolsynthese.
Mitteilungen Klosterneuburg, 22: 345-349

FEUCHT, W.; FORCHE, E.; 1972:

Indoleessigsäure-1-¹⁴C-Umsetzungen und durch Phenole beeinflusste Auxinwirkungen bei Prunusarten.
Angewandte Botanik, 46: 295-303

FEUCHT, W.; KHAN, M.Z.; 1973:

Einfluß des DL-Catechins auf das Wachstum von in vitro kultivierten Prunus-Sproßsegmenten.
Z.Pflanzenphysiologie, 69; (3): 242-248

FIORINO, P.; VITAGLIONE, C.; 1968:

Nuove tecniche per ottonere barbatelle di pesco. III Ulteriori ricerche sulla nebulizzazione.
Riv.del.Ortofl.Ital., 52 (6): 779-795

- FORREST, G.J.; 1969:
Studies on the polyphenol metabolism
of tissue cultures derived from the
tea plant (*Camellia sinensis* L.) .
Biochem. J., 113: 765
- FORREST, G. J.; BENDALL, D.S.; 1969:
The distribution of polyphenols in tea
plant.
Biochem. J., 113: 741
- FOSKET, D.E.; SHORT, K.C.; 1973:
The role of cytokinin in the regulation
of growth. DNA synthesis and cell proli-
feration in cultured soybean tissues.
Physiol. Plant. 28(1): 14 - 23
- FOSKET, D.E.; TORREY, J.G.; 1969:
Hormonal control of cell proliferation
and xylem differentiation in cultured
tissue of *Glycine max.* var. Biloxi.
Plant Physiol., 44: 871 - 880
- FURUJA, M.; TORREY, J.G.; 1964:
The reversible inhibition by red and
far-red light of auxin-induced lateral
root initiation in isolated pea roots.
Plant Physiol., 39: 987 -991
- GALSTON, A.W.; 1948:
On the physiology of root initiation
in excised asparagus stem tips.
Am. J. Bot., 35: 281 - 287
- GAMBORG, O.L.; CONSTABEL, F.; SHYLUK, J.P.; 1974:
Organogenesis in callus from shoot apices
of *Pisum sativum*.
Physiol. Plant., 30: 125 - 128
- GARDNER, E.J.; 1941:
Propagation under mist.
Amer. Nurs., 73(9): 5 - 7
- GAUTHERET, R.J.; 1969:
Investigations on the root formation
in the tissues of *Helianthus tuberosus*
cultured in vitro.
Am. J. Bot., 56: 702 - 717
- GOLDACRE, P.L.; GALSTON, A.W.; WEINTRAUB, R.L.; 1953:
The effect of substituted phenols on
the activity of IAA oxidase of peas.
Arch. Biochem. Biophys., 43: 358 - 373
- GORDON, S.A.; PALEG, L.G.; 1961:
Formation of auxin from tryptophan through
action of polyphenols.
Plant Physiol., 36: 838 - 845

GORTER, C.J.; 1968:

Hormone translocation and rooting. In:
The transport of plant hormones. Y. VARDAR (ed)
North - Holland Publishing Company, Amsterdam
S. 292 - 308

- 1969:

Auxin - synergists in the rooting of
cuttings.
Physiol. Plant., 22: 497 - 502

GREENWOOD, M.S.; GOLDSMITH, M.H.M.; 1970:

Polar transport and accumulation of IAA
during root regeneration by *Pinus lambertina*
embryos.
Planta, 95: 297 - 313

GUERRIERO, R.; LORETI, F.; 1972:

Researches on relationships between dor-
mancy and rooting on peach hardwood
cuttings.
Riv. del. Ortofl. Ital., 56 (5 - 6):
386 - 398

HARTMANN, H.T.; BROOKS, R.M.; 1958:

Propagation of Stockton Morello Cherry
rootstock by softwood cuttings under
mist sprays.
Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 71: 127-134

HARTMANN, H.T.; HANSEN, C.J.; 1958:

Effect of season of collecting indole
butyric acid and preplant storage treatments
on rooting of Marianna plum, peach, and
quince hardwood cuttings.
Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 71: 57 - 66

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; 1968:

Plant propagation principles and practices.
Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.

HEIDE, O.M.; 1964:

Effects of light and temperature on the
regeneration ability of *Begonia* leaf cuttings.
Physiol. Plant., 17: 789 - 804

- 1965:

Interactions of temperatures, auxins and
kinins in the regeneration ability of
Begonia leaf cuttings.
Physiol. Plant., 18: 891 - 920

- 1967:

The auxin level of *Begonia* leaves in
relation to their regeneration ability.
Physiol. Plant., 20 (4): 886 - 902

HEIDE, O.M.; 1972:

The role of cytokinin in regeneration process. In: Hormonal regulation in plant growth and development. H. KALDEWEY, Y. VARDA (eds.), Proc. Adv. Study Inst. Izmir 1971, Verlag Chemie, Weinheim

HEMBERG, T.; 1951:

Establishment of acid growth-inhibiting substances in plant extracts containing auxins by means of Avena tests. Physiol. Plant., 4: 437-445

HENKE, O.; 1959:

Untersuchungen über den Einfluß von Vitis cinerea Arnold auf einige biochemische Eigenschaften der Kreuzungsnachkommen. Z. Pflanzenzüchtung, 41: 253-270

HESS, C.E.; 1962:

Characterization of the rooting cofactors extracted from Hedera helix L. and Hibiskus rosa-sinensis L. Proc. 16th Int.Hort.Cong. S.382-388

- 1963:

Naturally-occurring substances which stimulate root initiation. Col.Int.du Centre Nat.Recherche Sci. 123: 517-527, Paris

- 1969:

Internal and external factors regulating root initiation. In: Root growth by W.J. WHITTINGTON (ed) S. 42-53, Butterworth, London

HESS, D.; 1970:

Pflanzenphysiologie.
Ulmer Verlag, Stuttgart

HILLIS, W.E.; SWAIN, T.; 1959:

The phenolic constituents of Prunus domestica II. The analysis of tissues of the Victoria plum tree. J.Sci.Food Agric., 10: 135-144

-

1959:

Phenolic constituents of Prunus domestica III. Identification of the mayor constituents in the tissues of Victoria plum. J.Sci.Food Agric., 10: 533-537

HOWARD, B.H.; 1965:

Increase during winter in capacity for root regeneration in detached shoots of fruit tree rootstocks. Nature, 208: 912-913

HOWARD, B.H.; 1968:

The influence of IBA and basale temperature on the rooting of apple rootstock hardwood cuttings.
J.hort.Sci., 43: 23-31

HOWARD, B.H.; NAHLAWI, N.; 1969:

Factors affecting the rooting of plum hardwood cuttings.
J.hort.Sci., 44: 303-310

HÜLSMANN, B.; 1937:

Versuche zur Stickstoffdüngung von Stecklingen.
Gartenbauwissenschaft., 10: 576-609

JACKSON, M.B.; HARNEY, P.M.; 1970:

Rooting cofactors IAA and adventitious root in mung bean cuttings (*Phaseolus aureus*).
Cn.J.Bot., 48:11: 943-946

JAIN, M.K.; NANDA, K.K.; 1972:

Effect of temperature and some anti-metabolites on the interaction effects of auxin and nutrition in rooting etiolated stem segments of *Salix tetrasperma*.
Physiol.Plant., 27: 169-172

JAUHARI, O.S.; KOHLI, V.P.; 1960:

Studien über die Vermehrung von Pfirsich durch Steckholz mit Hilfe von Wachstumsregulatoren.
Curr.Sci., 29: 282-283

JANKIEWICZ, L.S.; BOJARCZUK, T.; PIATKOWSKI, M.G.; 1973:

The effect of rutin and pyrogallol upon rooting of softwood cuttings of magnolias and *Syringia meyeri* Schneid.
Acta Agrobotanica Vol. XXVI, z.2, S. 277-283

JANSEN, H.; 1967:

Die Wirkung von Gibberellinsäure und IES auf die Wurzelbildung von Tomatenstecklingen.
Planta, 74: 371-378

- 1969:

Wuchs- und Hemmstoffe im Gartenbau.
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

.KARANOV, E.N.; 1972:

Effect of some indole and phenolic compounds on the ageing of detached leaves.
In: H.KALDEWEY und Y.VARDAR (eds.): Hormonal regulation in plant growth and development.
Proc.Adv.Study Inst. Izmir 1971, S. 467-472
Verlag Chemie, Weinheim

KARNATZ, H.; 1962:

Praktische Erfahrungen mit der Vermehrung
der Kirschunterlage F 12/1.
Erwerbsobstbau, 4: 23-24

KAWASE, M.; 1964:

Centrifugation, rhizocaline and rooting
in *Salix alba* L.
Physiol.Plant., 17: 855-865

KESTER, D.E.; SARTORI, E.; 1966:

Rooting of cuttings in populations peach
(*Prunus persica*), almond (*Prunus amygdalus*),
and their F₁ hybrid.
Proc.Amer.Soc.Hort.Sci., 88:219-223

KLEIN, R.M.; (ed.); 1961:

Plant growth regulation.
Ames, Iowa

KRAUS, E.J.; BROWN, N.A.; HAMNER, K.C.; 1936:

Histological reactions of bean plants to
indoleacetic acid.
Bot.Gaz., 98: 370-420

KRAUS, E.J.; KRAYBILL, H.R.; 1918:

Vegetation and reproduction with special
reference to the tomato.
Oregon Agric.Exp.Sta.Bull., 149

LAGERSTEDT, H.B.; 1967:

Propagation of *Begonias* from leaf disks.
HortScience, 2: 20-22

LARSEN, P.; 1961:

Biological determination of natural auxins.
Handb.d.Pflanzenphysiologie, 14: 521-582

- 1962

Planternes vekststoffer.
Köpenhamn

LEE, C.I.; TUCKEY, H.B.; 1971:

Induction of root-promoting substances in
Euonymus alatus Compactus by intermittent
mist.
Amer.J.Soc.Hort.Sci., 96(6): 731-736

LEOPOLD, A.C.; 1955:

Auxin and plant growth.
Los Angeles

- 1964:

Plant growth and development.
New York

- 1964:

Plant hormones.
The Hormones, 4: 1-66

- LEOPOLD, A.C.; PLUMMER, T.H.; 1961:
Auxin-phenol complexes.
Plant Physiol., 36: 589-592
- LINSMAIER, E.M.; SKOOG, F.; 1965:
Organic growth factor requirements of.
tobacco tissue cultures.
Physiol.Plant., 18: 100-127
- LIPECKI, J.; DENNIS, F.G.; 1972:
Growth inhibitors and rooting cofactors
in relation to rooting response of
softwood apple cuttings.
HortScience, 7(2): 136-138
- LYR, H.; POLSTER, H.; FIEDLER, H.-J.; 1967:
Gehölzphysiologie.
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena
- MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B.; 1970:
The systematic identification of flavonoids.
Springer-Verlag, Berlin
- MEREDITH, W.C.; JOINER, J.N.; BIGGS, R.H.; 1970:
Influences of IAA and kinetin on rooting
and indole metabolism of Feijoa sellowiana.
Amer.J.Hort.Sci., 95(1): 49-52
- MEYER, J.; 1964:
Die Anzucht von Obstunterlagen in der
Nebelvermehrung.
Schweizerische Zeitung für Obst- und Wein-
bau, 73: 389-397
- MIROV, N.T.; 1944:
J.Forestry, 42: 199
- MOHR, H.; 1969:
Pflanzenphysiologie.
Springer-Verlag, Berlin
- MOUSION, M.; DUNEZ, J.; 1971:
Obtention de jeunes plantes de Prunus mariana
à partir de boutures cultivées in vitro.
C.R.Acad.Sci. (Paris), Sér. D, 272:
1861-1864
- MURASHIGE, T.; 1974:
Plant propagation through tissue cultures.
Ann.Rev.Plant.Physiol., 25: 135-166
- MURASHIGE, T.; SHABDE, M.N.; HASEGAWA, P.M.; TAKATORI, F.H.;
JONE, J.B.; 1972:
Propagation of Asparagus through shoot apex
culture. I. Nutrient medium for formation
of plantlets.
Amer.J.Hort.Sci., 97(2): 158-161

- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.; 1962:
A revised medium for rapid growth and
bio assays with tobacco tissue cultures.
Physiol.Plant., 15: 473-497
- NANDA, K.K.; ANAND, V.K.; 1970:
Seasonal changes in auxin effects on
rooting of stem cuttings of *Populus
nigra* and its relationship with
mobilization of starch.
Physiol.Plant., 23: 99-107
- NANDA, K.K.; JAIN, M.K.; MALHOTRA, S.; 1971:
Effect of glucose and auxins in rooting
etiolated stem segments of *Populus nigra*.
Physiol.Plant., 24: 387-391
- NANDA, K.K.; PUROHIT, A.N.; MEHROTA, K.; 1968:
Effect of sucrose, auxins, and gibberillic
acids on rooting of stem segments of
Populus nigra under varying light
conditions.
Plant and Cell Physiol., 9: 735-743
- NEU, R.; 1956:
Ein neues Reagenz zum Nachweis und zur
Unterscheidung von Flavonen im Papier-
chromatogramm.
Die Naturwissenschaften, 43: 82
- NITSCH, J.P. (ed.); 1964:
Régulateurs naturels de la croissance
végétale.
5th Int. Conf. on Natural Plant Growth
Regulators, Paris
- ODOM, R.E.; CARPENTER, W.J.; 1965:
The relationship between endogenous indole
auxins and the rooting of herbaceous cuttings.
Proc.Amer.Soc.Hort.Sci., 87: 494-501
- OLDEN, E.J.; NYBOM, N.; 1968:
On the origin of *Prunus cerasus*
Hereditas, 59: 327-345
- OLIEMAN-van der MEER, A.W.; PIERIK, R.L.; ROEST, S.; 1971:
Effect of sugar, auxin, and light on
adventitious root formation in isolated
stem explants of *Phaseolus* and *Rhododendron*
Mededelingen Fakulteit Landbouw Wetenschappen
Gent, 36(1): 511-518
- O'ROURKE, F.L.; 1949:
Mist humidification and the rooting of
cuttings.
Mich.Agr.Exp.Sta.Quart.Bul., 32: 245-249

- OVERBEEK, J. van; GORDON, S.A.; GREGORY, L.E.; 1946:
An analysis of the function of the leaf
in the process of root formation in
cuttings.
Am.J.Bot., 33: 100-107
- OVERBEEK, J. van; GREGORY, L.E.; 1945:
A physiological separation of two factors
necessary for the formation of roots on
cuttings.
Am.J.Bot., 32: 336-341
- PASCAL; RIBEREAU-GAYON; 1968:
Plant phenolics.
Dunod
- PERRY, F.B.; VINES, H.M.; 1972:
Propagation of *Magnolia grandiflora*
cuttings as related to age and growth
regulators.
J.Amer.Soc.Hort.Sci., 97(6): 753-756
- PIERIK, R.L.M.; 1969:
Factors affecting adventitious root
formation in isolated stem segments of
Rhododendron.
Neth.J.Agric.Sci., 17: 203-208
- 1971:
Adventitious root formation in isolated
petiole segments of *Lunaria anna* L.
Sonderdruck
- PILET, P.E.; 1964:
Effect of chlorogenic acid on the auxin
catabolism and the auxin content of root
tissues.
Phytochemistry, 3: 617-621
- POAPST, P.A.; DURKEE, A.B.; 1967:
Root-differentiating properties of some
simple aromatic substances of the apple
and pear fruit.
J.hort.Sci., 42: 429-438
- POABST, P.A.; DURKEE, A.B.; JOHNSTON, F.B.; 1970:
Root differentiating properties of some
glykosides and polycyclic phenolic com-
pound in apple and pear fruits.
J.hort.Sci., 45: 69-74
- QUOIRIN, M.; BOXUS, P.; GASPAR, T.; 1974:
Root initiation and isoperoxidases of
stem tip cuttings from mature *Prunus* plants.
Physiol.Vég., 12(2): 165-174

RAINES, M.A.; 1940:

Some uses of a spray chamber in experimentation with plants.
Am.J.Bot., Suppl. to Vol. 27, No. 10, S. 185

RAO, P.S.; HANDRO, W.; HARADA, H.; 1973:

Hormonal control of differentiation of shoots, roots, and embryos in leaf and stem cultures of *Petunia inflata* and *Petunia hybrida*.
Physiol.Plant., 28: 458-463

RAPPAPORT, J.; 1940:

The influence of leaves and growth substances on the rooting response of cuttings.
Natuurw. Tijdschr., 21: 356-359

RICHARDS, M.; 1964:

Root formation on cuttings of *Camellia reticulata* var. *Capt. Rawes*.
Nature, 204: 601-602

ROVERSI, A.; 1972:

Effects of IAA, IBA, NAA, and DMSO on rooting on hazel cuttings.
Riv.del Ortofl.Ital., 56(5-6): 406-413

ROY, B.N.; ROYCHOUDHURY, N.; BOSE, T.K.; BASU, R.N.; 1972:

Endogenous phenolic compounds as regulators of rooting cuttings.
Phyton, 30(1/2): 147-151

RÜCKER, W.; 1971:

Synergistische und antagonistische Wirkungen von Phenolen und Phenolderivaten mit Indoleessigsäure auf Wachstum und Differenzierung in vitro kultivierter Pflanzengewebe.
Monatshefte für Chemie, 102: 51-57

SAAVEDRA, E.; 1971:

Experimentelle Untersuchungen zur Wachstums- und Entwicklungsphysiologie von *Malus*-Unterlagen.
Diss. Univ. Giessen

SASSO, G.; BASOCCU, L.; 1972:

Experiments on a new technique for rooting cuttings using auxin growth substances.
Riv.del Ortofl.Ital., 56(5-6): 414-424

- SCARAMUZZI, F.; LORETI, F.; FIORINO, P.; 1963:
Die Vermehrung von Pfirsichsorten durch
Steckhölzer. Studien über die kombinierte
Wirkung von Temperatur und Bewurzelungs-
substanzen.
Ital.Agric., 100: 249-255
- SCHIMMELPFENG, H.; 1965:
Vermehrung von Sauerkirschen durch
Grünstecklinge.
Erwerbsobstbau, 7(3): 48-50
- SCHMIDT, H.; 1973:
Untersuchungen zur Züchtung schwach-
wachsender Unterlagen für Süßkirschen.
I. Blütendifferenzierung und -entwick-
lung bei Prunus-Arten und Formen.
Z.Pflanzenzüchtung, 70: 72-82
- SCHÖNBERG, G.; 1963:
Die Produktion von vegetativ vermehrten
Unterlagen von Prunus mahaleb L. Die
Bewurzelung von Stecklingen im Nebel.
Obstbau, 3: 90-92
- SCHOPFER, P.; 1970:
Experimente zur Pflanzenphysiologie.
Verlag Rombach, Freiburg
- SCHRAUDOLF, H.; 1973:
Wachstum. In: Fortschritte der Botanik
Bd. 35, Springer Verlag, Berlin, S. 121-140
- SCHRÖCK, O.; 1956:
Wiss. Abh. d. DAL, Berlin Nr. 16, 39
- SKOOG, F.; 1944:
Growth and organ formation in tobacco
tissue cultures.
Am.J.Bot., 31: 19-24
- SKOOG, F.; MILLER, C.O.; 1957:
Chemical regulation of growth and organ
formation in plant tissues cultured in
vitro. The biological action of growth
substances, 118-131. Ed. by PORTER. London.
- SKOOG, F.; TSUI, C.; 1948:
Chemical control of growth and bud for-
mation in tobacco stem and callus cultured
in vitro.
Am.J.Bot., 35: 782-787
- - 1951:
Growth substances and the formation of
buds in plant tissue. Plant growth substances.
Madison, Wisc. University of Wisconsin Press

SNYDER, W.E.; HESS, C.E.; 1957:

An evaluation of the mist techniques for the rooting of cuttings as used experimentally and commercially in America.

Proc. 14th Int. Hort. Cong. 1955, 2: 1125-1132

SÜDING, H. 1952:

Die Wuchsstofflehre .
Georg Thieme, Stuttgart

- 1961:

Die Auxine. Historische Übersicht.
Handb.d.Pflanzenphysiol., 14: 450-484

SPIEGEL, P.; 1954:

Auxins and inhibitors in canes of vitis.
Bull.Res.Counc. Israel, 4: 176-183

- 1955:

Some internal factors affecting rooting of cuttings.
Rept.XIV.Int.Hort.Cong., S. 239-246

STAHL, E.; 1967:

Dünnschichtchromatographie.
Berlin

STEWART, F. C.; MAPES, M.O.; MEARS, K.; 1958:

Growth and organized development of cultured cells. II. Organization in cultures grown from freely suspended cells.
Am.J.Bot., 45: 705-708

STOLTZ, L.P.; 1968:

Factors influencing root initiation in an easy- and a difficult-to-root Chrysanthemum.
Proc.Amer.Soc.Hort.Sci., 92: 622-626

STONIER, T.; HUDECK, J.; VANDE-STOUWE, R.; YANG, H.; 1970:

Studies of auxin protectors VIII. Evidence that auxin protectors act as cellular poisons.
Physiol.Plant., 23: 775-783

STONIER, T.; YANG, H.; 1971:

Studies on auxin protectors. X. Protector levels and lignification in sunflower crown gall tissue.
Physiol.Plant., 25: 474-481

STONIER, T.; SINGER, R.W.; YANG, H.; 1970:

Studies on auxin protectors. IX. Inactivation of certain protectors by polyphenol oxidase.
Plant Physiol., 46: 454-457

- STOUTEMYER, V.T.; O'ROURKE, F.L.; 1943:
Spray humidification and the rooting
of greenwood cuttings.
Amer.Nurs., 77(1):5-6, 24-25
- SWAIN, T.; HILLIS, W.E.; 1959:
The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis
of phenolic constituents.
J.Sci.Food Agric.10: 63
- THIMANN, K.V.; 1963:
Plant growth substances; past, present
and future.
Ann.Rev.Plant Physiol., 14: 1-18
- THIMANN, K.V.; DESLISLE, A.L.; 1939:
The vegetative propagation of difficult
plants.
Jour.Arnold Arb., 20: 116-136
- THIMANN, K.V.; POUTASSE, E.F.; 1941:
Factors affecting root formation of
Phaseolus vulgaris.
Plant Physiol., 16: 585-598
- THORPE, T.A.; MEIER, D.D.; 1973:
Effects of GA and ABA on shoot formation
in tobacco callus cultures.
Physiol.Plant., 29: 121-124
- THORPE, T.A.; MURASHIGE, T.; 1970:
Some histochemical changes underlying
shoot initiation in tobacco callus
cultures.
Can.J.Bot., 48: 277-285
- TOGNONI, F.; LORENZI, R.; 1972:
Influence of chemical treatments on the
rooting capacity of *Chamaecyparis* and
Picea.
Riv.d.Ortofl.Ital., 56:399-405
- TOMASZEWSKI, M.; 1964:
The mechanism of synergistic effects
between auxin and some natural
phenolic substances. In: N.N., Régulateurs
naturels de la croissance végétale.
Paris
- TOMASZEWSKI, M.; THIMANN, K.V.; 1966:
Interactions of phenolic acids, metallic
ions and chelating agents on auxin-induced
growth.
Plant Physiol., 41: 1443-1454

TRECUL, A.; 1846:

Recherches sur l'origine des racines.
Ann.Sci.Nat.Bot.Ser., 3: 340-350

TRYON, K.; 1956:

Scopoletin in differentiating and
nondifferentiating cultured tobacco tissues
Science, 123: 590

van der LEK, H.A.A.; 1925:

Root development in woody cuttings.
Meded.Landbouwhoogeschool Wageningen, 38(1)

-

1930:

Anatomical structure of woody plants in
relation to vegetative propagation.
Proc.IX.Int.Hort.Cong., 66-76

van TIEGHAM, P.; DOULIOT, H.; 1888:

Recherches comparatives sur l'origine des
membres endogènes dans les plantes vasculaires.
Ann.Sci.Nat.Bot., VII, 8: 1-160

VAIRA, G.; 1969:

La propagazione per talea legnosa del
mandorlo.
Riv.d.Ortofl.Ital. 53(1): 55-60

VASIL, V.; HILDEBRANDT, A.C.; 1965:

Differentiation of tobacco plants from
single, isolated cells in micro cultures.
Science, 150: 889-892

VIEITEZ, E.; PENA, J.; 1968:

Seasonal rhythm of rooting of *Salix atrocinerea*
cuttings.
Physiol.Plant., 21: 544-555

VIEITEZ, E.; SEOANE, E.; GESTO, M.V.; MATO, C.; VAZQUEZ, A.;

CARNICER, A.; 1966:
p-Hydroxybenzoic acid, a growth regulator,
isolated from woody cuttings of *Ribes rubrum*.
Physiol.Plant., 19: 294-307

WELLS, J.S.; 1958:

Plant propagation practices.
New York

WENT, F.W.; 1929:

On a substance causing root formation.
Proc.Kon.Ned.Akad.Wet., 32: 35-39

-

1934:

On the pea test method for auxin, the
plant growth hormone.
Proc.Kon.Ned.Akad.Wet., 37: 547-555

- WENT, F.W.; THIMANN, K.V.; 1937:
Phytohormones.
The Macmillan Company, New York
- WETMORE, R.H.; RIER, J.P.; 1963:
Experimental induction of vascular tissues
in callus of angiosperms.
Am.J.Bot., 50: 418-430
- WHITE, P. R.; 1954:
The cultivation of animal and plant cells.
The Ronald Press Co., New York
- WILKINS, M.B.; 1969:
Physiology of plant growth and development.
Mc Graw-Hill, London
- WINKLER, A.J.; 1972:
Some factors influencing the rooting of
vine cuttings.
Hilgardia, 2: 329-349
- WINTON, L.L.; 1968:
The rooting of liquid-grown aspen callus.
Am.J.Bot., 55(2): 159-167
- YEOMAN, M.M.; DYER, A.F.; ROBERTSON, A.I.; 1965:
Growth and differentiation of plant
tissue cultures. I. Changes accompanying the
growth of explants from *Helianthus tuberosus*.
Ann.Bot., 29: 265-276
- ZENK, M.H.; MÜLLER, G.; 1963:
In vivo destruction of exogenously applied
IAA as influenced by naturally occurring
phenolic acids.
Nature, 200: 761-763
- ZIMMERMANN, W.A.; 1936:
Untersuchungen über die räumliche und
zeitliche Verteilung des Wuchsstoffes
bei Bäumen.
Z.Bot., 30: 209-252

An dieser Stelle sei es mir gestattet, allen Mitarbeitern des Instituts für Obstbau der Universität Giessen, die mir stets mit Rat und Tat hilfreich zur Seite standen, Dank zu sagen.

Besonderen Dank schulde ich meinem verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. W. Feucht für die Überlassung des Themas und die stete Unterstützung und Förderung, mit der er meine Arbeit begleitete.

Schließlich danke ich meinem Mann, der mir mit viel Geduld über so manche "Krise", die diese Arbeit ausgelöst hat, mit großem Verständnis hinweggeholfen hat.

Lebenslauf

Am 7. März 1947 wurde ich als erstes Kind des Ingenieurs Heinz Denhard und dessen Ehefrau Käte, geb. Sajewka, in Bad Hersfeld geboren.

1953 wurde ich in der Volksschule in Niederaula eingeschult.

Ab 1957 besuchte ich das Realgymnasium für Mädchen in Bad Hersfeld, wo ich 1966 im mathematisch - naturwissenschaftlichen Zweig das Abitur bestand.

1966 nahm ich das Studium der Landwirtschaft an der Justus Liebig-Universität in Giessen auf. 1971 bestand ich die Diplomprüfung. Während des Studiums absolvierte ich landwirtschaftliche Praktika von insgesamt 12 1/2 Monaten.

Von 1971 bis 1974 arbeitete ich als wissenschaftliche Hilfskraft im Institut für Obstbau der Universität Giessen, um vorliegende Dissertation abzufassen.

1974 legte ich die erste Staatsprüfung ab.

Seit 1971 bin ich verheiratet.

Druck : H. Henkel, 6331 Hermannstein · Tel. 06441/32717